



No. 07-075238- -00000-0000

Fecha: 2007-07-24 16:19:38 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 222

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **ASTEX THERAPEUTICS LIMITED**

Dirección: 436 Cambridge Science Park,
Milton Road, Cambridge CB4 0QA,
Reino Unido de la Gran Bretaña.

Nacionalidad o Domicilio: Cambridge, Reino
Unido de la Gran Bretaña

Lugar de Constitución : Reino Unido de la
Gran Bretaña.

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: **JIMENA ESCOBAR URIBE**

Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: tm-patent@escobaruribe.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número 39.779.452T.P 68228

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER ANEXOS**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/GB2006/000207

Fecha 20 de enero de 2006

Publicación Internacional No. WO 2006/077426 A2

Fecha 27 de julio de 2006

6 TÍTULO (54) SALES DE ADICIÓN DE ÁCIDO DE PIPERIDIN-4-ILAMIDA DEL ÁCIDO
4-(2,6-DICLORO-BENZOIL-AMINO)-1H-PIRAZOL-3-CARBOXÍLICO
COMO INHIBIDORES DE CINASA.

7

Clasificación Internacional (51)

C07D 401/12

8

Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de Origen

Estados Unidos de América
Reino Unido de la Gran Bretaña

(32) Fecha

21 de enero de 2005

22 de enero de 2005

(31) Número de Solicitud

60/645.973

0501475.8

9

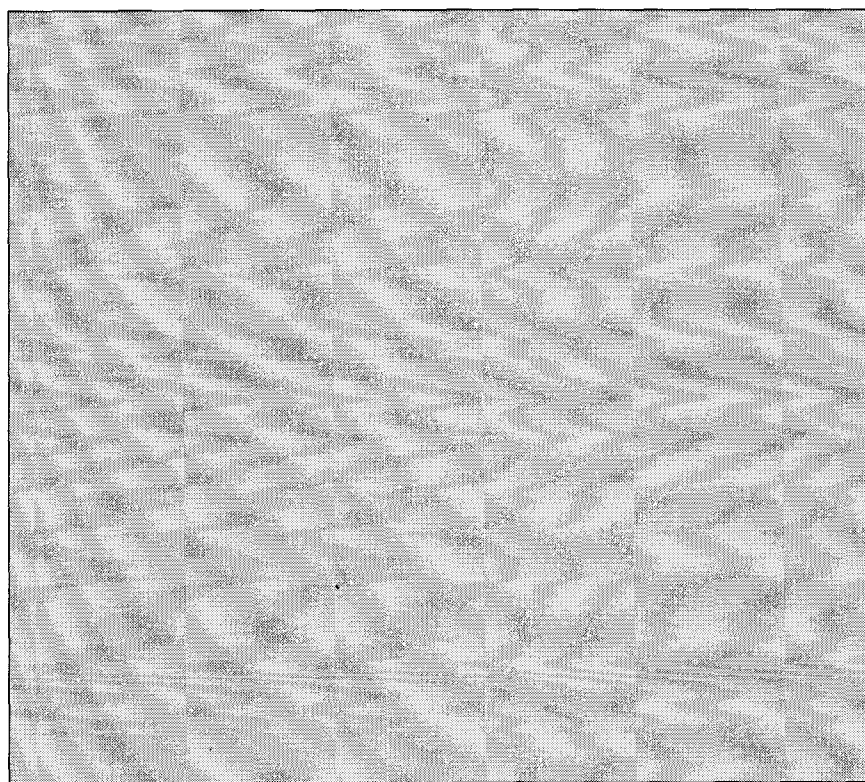
Comprobante de pago No. 07 - 51.442

Fecha

27 de junio de 2007

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☒ Otros "Opinión escrita "

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA: *Jimena Escobar*

C.C. 39.779.452 DE Usaquén T.P. 68.228

As. 3078/PCT

3078 2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176087-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 51,442
FECHA : JUNIO 27 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 07-075238- -00000-0000
Fecha: 2007-07-24 16:19:36 Dep. 2020 NIJECREACIONI
Ira: 11 PATENTE IYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 222

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	66415409	26/06/2007	9,193,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
TOTAL :			482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

POWER OF ATTORNEY DOCUMENTO DE PODER

El suscrito

The undersigned
acting on behalf of and representing **Astex Therapeutics Limited** a company duly organized and existing under the laws of **United Kingdom** domiciled at **436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, United Kingdom** hereby appoints **JIMENA ESCOBAR-URIBE** and/or **IGNACIO ESCOBAR-URIBE** domiciled at Bogota, Colombia
CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

as our true and legal attorneys with the necessary powers:

1. to apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining registration of patents, utility models, industrial designs, commercial ensigns and names, trademarks, domain names, copyrights and neighbouring rights, plant varieties, health licenses as well as their assignments, extensions, renewals, changes of name and domicile; 2. to prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind; 3. to intervene as plaintiffs or defendants, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public officer or authority in any judicial, administrative or police action, such as: actions dealing with commercial ensigns and names; oppositions against trademark registrations; caducity and nullity actions; recovery actions, actions arising from obtainment and working of license agreements; actions dealing with unfair competition; criminal actions; actions claiming indemnity for damages, complaints or remarks on all sort of industrial property matters; the performance of precautionary measures, and in any other similar action, measure or appeal related to industrial property matters, copyrights and neighbouring rights and obtentor of plant varieties rights. To this effect, we hereby authorize them to file applications, make descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, appeals and claims; to pay taxes, quotas and liens as provided by law; to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted, to receive all kind of documents and securities; to issue the respective releases and, in general to take, before said authorities, pertinent steps to the above-mentioned purposes and take all measures they may deem advisable to protect our interests, with all other necessary legal faculties, and we hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to our benefit.

This power comprises the authority to ratify or confirm on our behalf any action, as well as the faculty of receiving, desisting, transacting, compromising, conciliating, substituting and revoking substitutions, taking notifications and appointing judicial or extra-judicial attorneys.

Signed at *Cambridge*
On *7th February 2006*
M. J. [Signature]

CHIEF SCIENTIFIC
OFFICER

obrando en nombre y representación de
Astex Therapeutics Limited
una sociedad organizada y existente bajo las leyes del
Reino Unido
con domicilio en
436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, Reino Unido
nombra a **JIMENA ESCOBAR-URIBE** y/o **IGNACIO ESCOBAR-URIBE**
domiciliados en Bogotá, Colombia
CARRERA 11 A No. 94-76 OF. 305-306

apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente: 1. para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, registro de marcas, nombres de dominio, registro de derechos de autor y derechos conexos, registro de variedades vegetales, depósito de nombres comerciales y enseñas, registros sanitarios, así como sus trasposos, prórrogas, renovaciones, cambios de nombre y de domicilio; 2. elaborar, tramitar, solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias, autorizaciones y registros de cualesquiera clase; 3. intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso, y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas del nombre o enseña comerciales; observaciones u oposición al registro de marcas; acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias; acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales y civiles; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos u observaciones a cualquier asunto sobre propiedad industrial; el ejercicio de medidas cautelares y cualesquiera otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad industrial, los derechos de autor y derechos conexos y los derechos de obtentor de variedades vegetales. A este efecto, los facultamos para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses, con todas las demás facultades necesarias y por este documento desde ahora declaramos válido y bueno todo cuanto los apoderados hicieren en nuestro beneficio. Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en nuestro nombre lo actuado, así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, conciliar, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Firmado en
el



CERTIFICACIÓN NOTARIAL

El abajo firmante Notario Público certifica que el día 7 de Febrero 2006 de 2006 compareció (cieron) ante mí _____, quien (s) me consta que es (son) la (s) persona (s) que firma (n) el instrumento que antecede en su calidad de ~~Letz~~ ^{Chief Executive Officer} ~~oficial~~ ^{CEO} de la compañía ~~Astex~~ ^{Astex} ~~Therapeutics~~ ^{Therapeutics} Limited., sociedad existente, debidamente constituida y que ejerce su objeto social de conformidad con las leyes del ~~Reino Unido~~ ^{Reino Unido} domiciliada en ~~Cambridge~~ ^{Cambridge}, ~~Reino Unido~~ ^{Reino Unido}. Certifico, además, que dicha persona está facultada para firmar el documento que antecede en nombre de la citada sociedad, y que los objetivos y finalidades para los que se otorga el mencionado instrumento están comprendidos dentro de los objetivos o actividades de la mencionada sociedad.

Notario Público

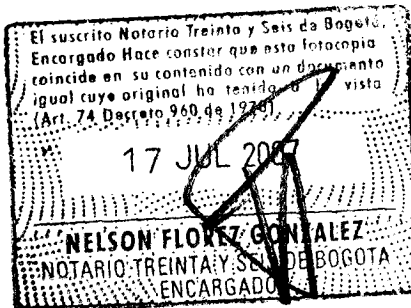
NOTARIAL CERTIFICATION

The undersigned Notary Public certifies that on 7th February 2006 before me personally appeared Harren Moti, who signed the forgoing instrument as Chief Executive Officer of ASTEX THERAPEUTICS LIMITED, a corporation existing, duly organized and complying with its corporate purposes in conformity with the laws of UNITED KINGDOM, whose home office is located in CAMBRIDGE U.K. I further certify that said individual is duly authorized to sign the forgoing instrument in the name of said corporation and that the purposes for which said instrument is granted are within the scope of the objects or activities of said corporation.

[Signature]

Notary Public
Cambridge England

Esta certificación notarial debe ser llenada en su totalidad y legalizarse por Apostilla
This notarial certification must be filled in completely and be legalized by Apostille



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **Peter C Fletcher**
a été signé par
3. Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

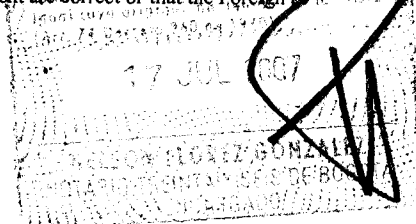
Certified/Attesté

5. at London/à Londres
6. the/le **15 February 2006**
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.
8. Number/sous No **G933763**
9. Stamp:
timbre:
10. Signature: **N. Donkor**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.



Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la APOSTILLA No. G933763 de 15 de febrero de 2006, expedida en Reino Unido de la Gran Bretaña, la cual corresponde a una certificación notarial, expedida el 7 de febrero de 2006, sobre la existencia representación de ASTEX THERAPEUTICS LIMITED, domiciliada en Cambridge, Reino Unido de la Gran Bretaña.

APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)

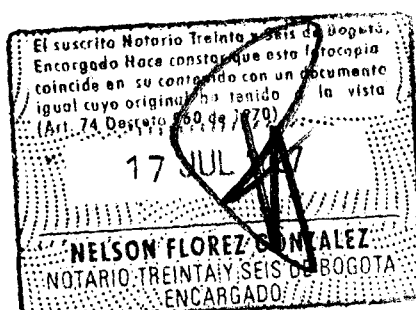
1. País: **Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte.**
2. Este documento público ha sido firmado por **Peter Fletcher.**
3. Actuando en su calidad de **notario público.**
4. Lleva el sello/estampilla del mismo notario público.

CERTIFICADO

5. En **Londres.**
6. El **15 de febrero de 2006.**
7. Por el **principal secretario de Estado de su majestad para los asuntos extranjeros y de la mancomunidad.**
8. No: **G933763**
9. Sello/Estampilla
10. Firma **N. Donkor**

(firma ilegible)


JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

948762

2006 MAY 22 P 2:09

J. mena Escobar
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

[Signature]
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

El suscrito Notario Treinta y Seis de Bogotá
Encargado Hace constar que esta fotocopia
coincide en su contenido con el documento
igual cuyo original ha sido o la vista
(Art. 74 Decreto 968 de 1970)

17 JUL 2007

NELSON FLOREZ GONZALEZ
NOTARIO TREINTAY SEIS DE BOGOTA
ENCARGADO

ANEXOS

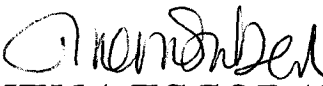
INVENTORES

- 1.) **WYATT, Paul, Graham**
(Division of Biological Chemistry & Molecular Microbiology University of Dundee, Dow Street, Dundee
DD1 5EH, Reino Unido de la Gran Bretaña);
- 2.) **REES, David, Charles**
(436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, Reino Unido de la Gran Bretaña);
- 3.) **VINKOVIC, Mladen**
(436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, Reino Unido de la Gran Bretaña);
- 4.) **TREWARTHA, Gary**
(436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, Reino Unido de la Gran Bretaña).

7

Solicito expresamente a nombre de la sociedad **ASTEX THERAPEUTICS LIMITED**, sociedad constituida de conformidad con las leyes de Reino Unido de la Gran Bretaña, domiciliada en 436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, Reino Unido de la Gran Bretaña, el otorgamiento de Patente para la invención titulada **“SALES DE ADICIÓN DE ÁCIDO DE PIPERIDIN-4-ILAMIDA DEL ÁCIDO 4-(2,6-DICLORO-BENZOIL-AMINO)-1H-PIRAZOL-3-CARBOXÍLICO COMO INHIBIDORES DE CINASA”**.

Clase: C07D 401/12


JIMENA ESCOBAR URIBE
C.C. 39.779.452 de Usaquen.
T.P. 68.228

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 401/12	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) ASTEX THERAPEUTICS LIMITED	
(30) Prioridad Estados Unidos de América Reino Unido de la Gran Bretaña	(31) No. Prioridad 60/645,973 0501475.8	(32) Fecha 21/01/05 22/01/05	(33) País US GB
		(72) Inventor(es) WYATT, Paul, Graham // REES, David, Charles // VINKOVIC, Mladen // TREWARTHA, Gary .	
		(74) Agente: JIMENA ESCOBAR URIBE	
(85) Fecha inicio fase nacional:		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: Fecha (dd/mm/aa) 27/07/06	
Fecha de presentación de la solicitud: Fecha 20/01/06		N° publicación: WO 2006/077426 A2	
No. de solicitud PCT/GB2006/000207			
(54) Título: SALES DE ADICIÓN DE ÁCIDO DE PIPERIDIN-4-ILAMIDA DEL ÁCIDO 4-(2,6-DICLORO-BENZOIL-AMINO)-1H-PIRAZOL-3-CARBOXÍLICO COMO INHIBIDORES DE CINASA.			

Reivindicación(es):

1. Una sal de adición de ácido de piperidín-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, formándose la sal con un ácido seleccionado a partir de ácido metansulfónico y ácido acético, y mezclas de los mismos.

11. Una sal de ácido metansulfónico sustancialmente cristalina de la piperidín-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, que tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X caracterizado por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ) y espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla A, y opcionalmente en la Tabla B; por ejemplo, en donde el patrón de difracción en polvo de rayos-X se caracteriza por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ), espacios interplanares (d), e intensidades estipulados en la Tabla C de la presente.

RESUMEN

La invención proporciona una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y cristales de la misma, formándose la sal con
5 un ácido seleccionado a partir de ácido metansulfónico y ácido acético, y mezclas de los mismos.

También se proporcionan los usos novedosos de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, procesos para la preparación de la piperidin-4-ilamida
10 del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales, e intermediarios químicos novedosos.

* * * * *

15

20

25

SALES DE ADICIÓN DE ÁCIDO DE PIPERIDIN-4-ILAMIDA DEL
ÁCIDO 4-(2,6-DICLORO-BENZOIL-AMINO)-1H-PIRAZOL-3-
CARBOXÍLICO COMO INHIBIDORES DE CINASA

Esta invención se refiere a sales de adición de ácido del
5 compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-
amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y a las formas cristalinas de las
mismas, a procesos para la preparación del compuesto y sus sales
de adición de ácido, a intermediarios novedosos para utilizarse en
los procesos, y a los usos terapéuticos del compuesto y sus sales de
10 adición de ácido. La invención también se refiere a novedosos usos
terapéuticos de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-
benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus análogos.

Antecedentes de la Invención

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-
15 benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y la sal de adición de ácido
clorhídrico de la misma, se dan a conocer en nuestra Solicitud de
Patente Internacional anterior Número PCT/GB2004/003179
(Publicación Número WO 2005/012256) como inhibidores de las
quinasas dependientes de ciclina (quinasas CDK) y de la cinasa-3 de
20 sintasa de glicógeno (GSK3).

Las quinasas de proteína constituyen una gran familia de
enzimas estructuralmente relacionadas que son responsables del
control de una amplia variedad de procesos de transducción de
señales adentro de la célula (Hardie, G. y Hanks, S. (1995) *The*
25 *Protein Kinase Facts Book. I and II*, Academic Press, San Diego,

CA). Las cinasas se pueden categorizar en familias por los sustratos que fosforilan (por ejemplo, proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, lípidos, etcétera). Se han identificado motivos de secuencia que corresponden en general a cada una de estas familias de cinasa (por ejemplo, Hanks, S. K., Hunter, T., *FASEB J.*, 9:576-596 (1995); Knighton y colaboradores, *Science*, 253:407-414 (1991); Hiles y colaboradores, *Cell*, 70:419-429 (1992); Kunz y colaboradores, *Cell*, 73:585-596 (1993); Garcia-Bustos y colaboradores, *EMBO J.*, 13:2352-2361 (1994)).

Las cinasas de proteína se pueden caracterizar por sus mecanismos de regulación. Estos mecanismos incluyen, por ejemplo, auto-fosforilación, trans-fosforilación por otras cinasas, interacciones de proteína-proteína, interacciones de proteína-lípido, e interacciones de proteína-polinucleótido. Una cinasa de proteína individual puede ser regulada por más de un mecanismo.

Las cinasas regulan muchos procesos celulares diferentes, incluyendo, pero no limitándose a, proliferación, diferenciación, apoptosis, movilidad, transcripción, traducción y otros procesos de señalización, mediante la adición de grupos fosfato a las proteínas objetivas. Estos eventos de fosforilación actúan como conmutadores moleculares de activación/desactivación que pueden modular o regular la función biológica de la proteína objetiva. La fosforilación de las proteínas objetivas se presenta en respuesta a una variedad de señales extracelulares (hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento y diferenciación, etcétera), eventos del ciclo celular,

tensiones medio-ambientales o nutricionales, etcétera. La cinasa de proteína apropiada funciona en las sendas de señalización para activar o inactivar (ya sea directa o indirectamente), por ejemplo, una enzima metabólica, proteína reguladora, receptor, proteína citoesquelética, canal o bomba de iones, o factor de transcripción. Se ha implicado una señalización incontrolada debida a un control defectuoso de la fosforilación de la proteína en un número de enfermedades, incluyendo, por ejemplo, inflamación, cáncer, alergia/asma, enfermedades y condiciones del sistema inmune, enfermedades y condiciones del sistema nervioso central, y angiogénesis.

Cinasas Dependientes de Ciclina

El proceso de división celular eucariótica se puede dividir ampliamente en una serie de fases en secuencia denominadas G1, S, G2, y M. Se ha demostrado que el progreso correcto a través de las diferentes fases del ciclo celular depende críticamente de la regulación especial y temporal de una familia de proteínas conocidas como cinasas dependientes de ciclina (cdks), y un conjunto diverso de sus componentes de proteína cognados asociados denominados ciclinas. Las cinasas dependientes de ciclina son proteína de cinasa de serina-treonina homólogas a cdc2 (también conocida como cdk1), que son capaces de utilizar el ATP como un sustrato en la fosforilación de diversos polipéptidos en un contexto dependiente de la secuencia. Las ciclinas son una familia de proteínas caracterizadas por una región de homología, que contiene

aproximadamente 100 aminoácidos, denominada como el "cuadro de ciclina", el cual se utiliza en el enlace a, y en la definición de la selectividad para, proteínas asociadas de cinasa dependiente de ciclina específicas.

5 La modulación de los niveles de expresión, las velocidades de degradación, y los niveles de activación de diferentes cinasas dependientes de ciclina, y las ciclinas a través de todo el ciclo celular, conduce a la formación cíclica de una serie de complejos de cinasa dependiente de ciclina/ciclina, en donde las cinasas
10 dependientes de ciclina son enzimáticamente activas. La formación de estos complejos controla el paso a través de puntos de verificación del ciclo celular separados, y de esta manera, hace posible que continúe el proceso de la división celular. La falla para satisfacer los criterios bioquímicos previamente requeridos en un
15 punto de verificación dado del ciclo celular, es decir, la falla para formar un complejo requerido de cinasa dependiente de ciclina/ciclina, puede conducir a un paro del ciclo celular y/o a apoptosis celular. La proliferación celular aberrante, como se manifiesta en el cáncer, con frecuencia se puede atribuir a una
20 pérdida de control del ciclo celular correcto. Por consiguiente, la inhibición de la actividad enzimática de la cinasa dependiente de ciclina proporciona un medio por el cual se puede hacer que las células que se dividan anormalmente detengan su división y/o sean aniquiladas. La diversidad de cinasas dependientes de ciclina, y
25 complejos de cinasa dependiente de ciclina, y sus papeles críticos

en la mediación del ciclo celular, proporciona un amplio espectro de objetivos terapéuticos potenciales seleccionados con base en una racionalización bioquímica definida.

El progreso desde la fase G1 hasta la fase S de ciclo celular, es primordialmente regulado por cdk2, cdk3, cdk4, y cdk6 mediante su asociación con miembros de las ciclinas de tipo D y E. Las ciclinas de tipo D parecen ser instrumentales para hacer posible el paso más allá del punto de restricción G1, en donde el complejo de cdk2/ciclina E es clave para la transición desde la fase G1 hasta la fase S. Se piensa que el progreso subsecuente a través de la fase S y la entrada en la fase G2 requiere del complejo de cdk2/ciclina A. Tanto la mitosis como la transición desde la fase G2 hasta la fase M que la desencadena, son reguladas por complejos de cdk1 y las ciclinas de tipo A y B.

Durante la fase G1, la proteína de retinoblastoma (Rb), y proteínas de bolsillo relacionadas, tales como p130, son sustratos para los complejos de cdk(2, 4, y 6)/ciclina. El progreso a través de la fase G1 es en parte facilitado por la hiperfosforilación, y por lo tanto la inactivación, de la proteína de retinoblastoma y p130 por los complejos de cdk(4/6)/ciclina-D. La hiperfosforilación de la proteína de retinoblastoma y p130 provoca la liberación de los factores de transcripción, tales como E2F, y por lo tanto, la expresión de los genes necesarios para el progreso a través de la fase G1 y para entrar en la fase S, tales como el gen para la ciclina E. La expresión de la ciclina E facilita la formación del complejo de cdk2/ciclina E, el

cual amplifica o mantiene los niveles de E2F por medio de una fosforilación adicional de la proteína de retinoblastoma. El complejo de cdk2/ciclina E también fosforila otras proteínas necesarias para la réplica del ADN, tales como NPAT, que se ha implicado en la biosíntesis de histona. El progreso en la fase G1 y la transición de G1/S, también son regulados por la senda de Myc estimulado por mitógeno, que se alimenta hacia la senda de cdk2/ciclina E. Cdk2 también se conecta a la senda de respuesta al daño del ADN mediada por p53 por medio de la regulación por p53 de los niveles de p21. p21 es un inhibidor de proteína de cdk2/ciclina E, y por lo tanto, es capaz de bloquear o demorar la transición de G1/S. Por consiguiente, el complejo de cdk2/ciclina E puede representar un punto en el cual se integran hasta algún grado los estímulos bioquímicos a partir de las sendas de Rb, Myc, y p53. Por consiguiente, cdk2 y/o el complejo de cdk2/ciclina E, representan buenos objetivos para la terapia diseñada para detener o recuperar el control de, el ciclo celular, en las células que se dividen de una manera aberrante.

No está claro el papel exacto de cdk3 en el ciclo celular. Como todavía no se ha identificado un componente asociado de ciclina cognado, pero sí una forma negativa dominante de células demoradas cdk3 en G1, se sugiere de esta manera que cdk3 tiene un papel en la regulación de la transición de G1/S.

Aunque la mayoría de las cinasas dependientes de ciclina se han implicado en la regulación del ciclo celular, existe evidencia de

que ciertos miembros de la familia de cinasa dependiente de ciclina están involucrados en otros procesos bioquímicos. Esto es ejemplificado por cdk5, que es necesaria para el desarrollo neuronal correcto, y que también se ha implicado en la fosforilación de varias proteínas neuronales, tales como Tau, NUDE-1, sinapsina1, DARPP32, y el complejo de Munc18/Syntaxina1A. La cdk5 neuronal es convencionalmente activada por el enlace a las proteínas p35/p39. Sin embargo, se puede desregular la actividad de cdk5 mediante el enlace de p25, una versión truncada de p35. La conversión de p35 hasta p25, y la desregulación subsecuente de la actividad de cdk5, se pueden inducir mediante isquemia, exitotoxicidad, y péptido- β -amiloide. En consecuencia, p25 se ha implicado en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas, tales como Alzheimer, y por consiguiente, es de interés como un objetivo para la terapia dirigida contra estas enfermedades.

Cdk7 es una proteína nuclear que tiene una actividad de cdc2 CAK, y se enlaza a la ciclina H. Cdk7 se ha identificado como un componente del complejo de transcripción TFIIH, que tiene una actividad de dominio terminal-c de polimerasa II de ADN (CTD). Se ha asociado con la regulación de la transcripción de HIV-1 por medio de una senda bioquímica mediada por Tat. Cdk8 se enlaza con la ciclina C, y se ha implicado en la fosforilación del CTD de la polimerasa II de ARN. De una manera similar, el complejo de cdk9/ciclina-T1 (complejo P-TEFb) se ha implicado en el control de la

elongación de la polimerasa II de ARN. PTEF-b también se requiere para la activación de la transcripción del genoma de HIV-1 mediante el transactivador viral Tat a través de su interacción con la ciclina T1. Cdk7, cdk8, cdk9, y el complejo P-TEFb, por consiguiente, son los objetivos potenciales para los terapéuticos anti-virales.

A un nivel molecular, la mediación de la actividad del complejo de cinasa dependiente de ciclina/ciclina, requiere de una serie de eventos estimulantes e inhibidores de fosforilación o desfosforilación. La fosforilación de la cinasa dependiente de ciclina es llevada a cabo por un grupo de cinasas activadoras de la cinasa dependiente de ciclina (CAKs), y/o de cinasas tales como wee1, Myt1 y Mik1. La desfosforilación es llevada a cabo por las fosfatasas, tales como cdc25(a y c), pp2a, ó KAP.

La actividad del complejo de cinasa dependiente de ciclina/ciclina puede ser además regulada por dos familias de inhibidores proteináceos celulares endógenos: la familia Kip/Cip, o la familia INK. Las proteínas INK se enlazan específicamente a cdk4 y cdk6. p16^{ink4} (también conocida como MTS1) es un gen supresor de tumor potencial que se muta o se suprime en un gran número de cánceres primarios. La familia Kip/Cip contiene proteínas, tales como p21^{Cip1, Waf1}, p27^{Kip1} y p57^{kip2}. Como se describe anteriormente, p21 es inducida por p53, y es capaz de inactivar los complejos de cdk2/ciclina(E/A) y cdk4/ciclina(D1/D2/D3). Se han observado niveles atípicamente bajos de la expresión de p27 en los cánceres de mama, colon, y próstata. Inversamente, se ha demostrado que la sobre-

expresión de la ciclina E en los tumores sólidos se correlaciona con un mal pronóstico del paciente. La sobre-expresión de ciclina D1 se ha asociado con carcinomas esofágicos, de mama, escamosos, y de pulmón que no son de células pequeñas.

5 Los papeles pivotaes de las cinasas dependientes de ciclina, y sus proteínas asociadas, en la coordinación e impulso del ciclo celular en las células proliferantes, ya se han ilustrado anteriormente. También se han descrito algunas de las sendas bioquímicas en las cuales las cinasas dependientes de ciclina tienen
10 un papel clave. Por consiguiente, es potencialmente altamente deseable el desarrollo de monoterapias para el tratamiento de trastornos proliferativos, tales como cánceres, utilizando terapéuticos dirigidos genéricamente hacia las cinasas dependientes de ciclina, o hacia cinasas dependientes de ciclina específicas.
15 Concebiblemente, los inhibidores de cinasa dependiente de ciclina también se pueden utilizar para tratar otras condiciones, tales como infecciones virales, enfermedades autoinmunes, y enfermedades neurodegenerativas, entre otras. Los productos terapéuticos dirigidos a la cinasa dependiente de ciclina también pueden proporcionar
20 beneficios clínicos en el tratamiento de las enfermedades previamente descritas, cuando se utilizan en una terapia de combinación con agentes terapéuticos existentes o nuevos. Las terapias contra el cáncer dirigidas a la cinasa dependiente de ciclina podrían tener potencialmente ventajas sobre muchos agentes anti-
25 tumorales actuales, debido a que no interactuarían directamente con

el ADN, y por consiguiente, deben reducir el riesgo de un desarrollo tumoral secundario.

Cinasa de Sintasa de Glicógeno

La cinasa de sintasa de glicógeno-3 (GSK3) es una cinasa de serina-treonina que se presenta como dos isoformas ubicuitamente expresadas en seres humanos (GSK3 α y GSK3 β). GSK3 se ha implicado por tener papeles en el desarrollo embrionario, en la síntesis de proteínas, en la proliferación celular, en la diferenciación celular, en la dinámica de los microtúbulos, en la movilidad celular, y en la apoptosis celular. Como tal, GSK3 se ha implicado en el progreso de estados de enfermedad tales como diabetes, cáncer, enfermedad de Alzheimer, embolia, epilepsia, enfermedad de neuronas motrices, y/o trauma de la cabeza. Filogenéticamente, GSK3 está más estrechamente relacionada con las cinasas dependientes de ciclina (CDKs).

La secuencia del sustrato peptídico en consenso reconocida por GSK3 es (Ser/Thr)-X-X-X-(pSer/pThr), en donde X es cualquier aminoácido (en las posiciones (n+1), (n+2), (n+3)), y pSer y pThr son fosfo-serina y fosfo-treonina, respectivamente (n+4). GSK3 fosforila la primera serina, o treonina, en la posición (n). La fosfo-serina, o fosfo-treonina, en la posición (n+4) parecen ser necesarias para cebar GSK3 con el fin de dar un máximo cambio de sustrato. La fosforilación de GSK3 α en Ser21, ó de GSK3 β en Ser9, conduce a la inhibición de GSK3. Los estudios de mutagénesis y competencia de péptidos han conducido al modelo de que el término-N fosforilado de

GSK3 es capaz de competir con el sustrato del fosfo-péptido (S/TXXXpS/pT) por medio de un mecanismo auto-inhibidor. También hay datos que sugieren que GSK3 α y GSK3 β pueden ser sutilmente reguladas por la fosforilación de las tirosinas 279 y 216, respectivamente. La mutación de estos residuos hasta un Phe provocó una reducción en la actividad de la cinasa *in vivo*. La estructura cristalográfica de rayos-X de GSK3 β ha ayudado a dar luz sobre todos los aspectos de la activación y regulación de GSK3.

GSK3 forma parte de la senda de respuesta a la insulina del mamífero, y es capaz de fosforilar, y de esta manera inactivar, la sintasa de glicógeno. El aumento de la actividad de la sintasa de glicógeno, y por lo mismo de la síntesis de glicógeno, a través de la inhibición de GSK3, por lo tanto, se ha considerado como un medio potencial para combatir la diabetes mellitus tipo II o no dependiente de insulina (NIDDM): una condición en la cual los tejidos corporales llegan a ser resistentes al estímulo de insulina. La respuesta de insulina celular en el hígado, en el tejido adiposo, o en el tejido muscular, es desencadenada por la insulina que se enlaza a un receptor de insulina extracelular. Esto provoca la fosforilación, y el reclutamiento subsecuente hacia la membrana de plasma, de las proteínas de sustrato del receptor de insulina (IRS). La fosforilación adicional de las proteínas de sustrato del receptor de insulina inicia el reclutamiento de la cinasa de fosfoinositida-3 (PI3K) hacia la membrana de plasma, en donde puede liberar el segundo mensajero de 3,4,5-trifosfato de fosfatidilinositilo (PIP3). Esto facilita la co-

localización de la cinasa-1 de proteína dependiente de fosfoinositida (PDK1) y de la cinasa B de proteína (PKB ó Akt) hacia la membrana, en donde la PDK1 activa la PKB. La cinasa B de proteína es capaz de fosforilar, y de esta manera inhibir, la GSK3 α y/o GSK3 β a través de la fosforilación de Ser9 ó Ser21, respectivamente. Entonces, la inhibición de GSK3 desencadena el aumento de la actividad de la sintasa de glicógeno. Por consiguiente, los agentes terapéuticos capaces de inhibir la GSK3 pueden inducir respuestas celulares ajenas a las que se ven sobre el estímulo de insulina. Un sustrato de GSK3 *in vivo* adicional es el factor 2B de inicio de síntesis de proteína eucariótica (eIF2B). El eIF2B se inactiva mediante fosforilación, y por lo tanto, es capaz de suprimir la biosíntesis de proteína. La inhibición de GSK3, por ejemplo, mediante la inactivación de la proteína "objetiva de rapamicina de mamífero" (mTOR), por lo tanto, puede aumentar la biosíntesis de proteína. Finalmente, existe alguna evidencia para la regulación de la actividad de GSK3 por medio de la senda de cinasa de proteína activada por mitógeno (MAPK) a través de la fosforilación de GSK3 mediante las cinasas, tales como la cinasa de proteína activada por mitógeno y la cinasa 1 de proteína activada (MAPKAP-K1 ó RSK). Estos datos sugieren que se puede modular la actividad de GSK3 mediante estímulos mitogénicos con insulina y/o aminoácido.

También se ha demostrado que GSK3 β es un componente clave en la senda de señalización de Wnt en los vertebrados. Se ha demostrado que esta senda bioquímica es crítica para el desarrollo

embrionario normal, y regula la proliferación celular en los tejidos normales. GSK3 llega a inhibirse en respuesta a los estímulos de Wnt. Esto puede conducir a la desfosforilación de los sustratos de GSK3, tales como Axina, el producto genético de poliposis-coli adenomatosa (APC) y β -catenina. La regulación aberrante de la senda de Wnt se ha asociado con muchos cánceres. Las mutaciones en APC, y/o β -catenina, son comunes en el cáncer colo-rectal y en otros tumores. También se ha demostrado que la β -catenina es importante en la adhesión celular. Por consiguiente, la GSK3 puede modular los procesos de adhesión celular hasta algún grado. Aparte de las sendas bioquímicas ya descritas, también existen datos que implican a la GSK3 en la regulación de la división celular por medio de la fosforilación de ciclina-D1, en la fosforilación de los factores de transcripción tales como c-Jun, CCAAT/proteína de enlace α de potenciador (C/EBP α), c-Myc y/u otros sustratos tales como Factor Nuclear de Células T Activadas (NFATc), Factor de Choque por Calor-1 (HSF-1) y la proteína de enlace de elemento de respuesta a c-AMP (CREB). GSK3 también parece tener un papel, aunque específico del tejido, en la regulación de la apoptosis celular. El papel de GSK3 en la modulación de la apoptosis celular, por medio de un mecanismo pro-apoptótico, puede ser una relevancia particular para las condiciones médicas en las cuales se pueda presentar la apoptosis neuronal. Los ejemplos de éstas son trauma de la cabeza, embolia, epilepsia, Alzheimer, y enfermedades de las neuronas motrices, parálisis supranuclear progresiva, degeneración

corticobasal, y enfermedad de Pick. *In vitro*, se ha mostrado que GSK3 es capaz de hiperfosforilar la proteína Tau asociada con microtúbulos. La hiperfosforilación de Tau altera su enlace normal a los microtúbulos, y también puede conducir a la formación de filamentos de Tau intra-celulares. Se cree que la acumulación progresiva de estos filamentos conduce a disfunción y degeneración neuronal eventual. La inhibición de la fosforilación de Tau, a través de la inhibición de GSK3, por lo tanto, puede proporcionar un medio para limitar y/o prevenir los efectos neurodegenerativos.

Linfomas de células-B Grandes Difusos (DLBCL)

El progreso del ciclo celular es regulado por la acción combinada de las ciclinas, las cinasas dependientes de ciclina (CDKs), y los inhibidores de CDK (CDKi), que son reguladores negativos del ciclo celular. p27KIP1 es una CDKi clave en la regulación del ciclo celular, cuya degradación se requiere para la transición de G1/S. A pesar de la ausencia de expresión de 27KIP1 en los linfocitos en proliferación, se han reportado algunos linfomas de células-B agresivos, que muestran un teñido anómalo de p27KIP1. Se encontró una expresión anormalmente alta de p27KIP1 en los linfomas de este tipo. El análisis de la relevancia clínica de estos descubrimientos mostró que un alto nivel de expresión de p27KIP1 en este tipo de tumor es un marcador de pronóstico adverso, tanto en el análisis univariado como multivariado. Estos resultados muestran que hay una expresión anormal de p27KIP1 en los linfomas de células B grandes difusos (DLBCL), con un significado clínico

adverso, sugiriendo que esta proteína p27KIP1 anómala puede hacerse no funcional a través de su interacción con otras proteínas reguladoras del ciclo celular. (Br. J. Cancer. julio de 1999; 80(9):1427-34. p27KIP1 se expresa anormalmente en los linfomas de células B grandes difusos, y está asociada con un resultado clínico adverso. Saez A, Sanchez E, Sanchez-Beato M, Cruz MA, Chacon I, Munoz E, Camacho FI, Martinez-Montero JC, Mollejo M, Garcia JF, Piris MA. Departamento de Patología, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, España).

10 Leucemia Linfocítica Crónica

La leucemia linfocítica crónica de células B (CLL) es la leucemia más común en el hemisferio occidental, diagnosticándose aproximadamente 10,000 nuevos casos cada año (Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA: Cancer statistics, 1997. Ca. Cancer. J. Clin. 15 47:5, (1997)). En relación con otras formas de leucemia, el pronóstico global de la leucemia linfocítica crónica es bueno, teniendo inclusive los pacientes en la etapa más avanzada una sobrevivencia promedio de 3 años.

La adición de fludarabina como la terapia inicial para los 20 pacientes con leucemia linfocítica crónica sintomática, ha conducido a un índice más alto de respuestas completas (27 por ciento contra 3 por ciento) y duración de sobrevivencia sin progreso (33 contra 17 meses), comparándose con las terapias basadas en alquilador previamente utilizadas. Aunque la obtención de una respuesta clínica 25 completa después de la terapia es el paso inicial hacia la mejora la

sobrevivencia en la leucemia linfocítica crónica, la mayoría de los pacientes no alcanzan una remisión completa, o no responden a la fludarabina. Adicionalmente, todos los pacientes con leucemia linfocítica crónica tratados con fludarabina eventualmente tienen

5 recurrencia, haciendo que su papel como el único agente sea puramente paliativo (Rai KR, Peterson B, Elias L, Shepherd L, Hines J, Nelson D, Cheson B, Kolitz J, Schiffer CA: A randomized comparison of fludarabine and chlorambucil for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia. A CALGB SWOG, CTG/NCI-C and ECOG Inter-Group Study. Blood 88:141a, 1996

10 (extracto 552, suplemento 1). Por consiguiente, será necesaria la identificación de nuevos agentes con mecanismos novedosos de acción que complementen a la citotoxicidad de la fludarabina, y que abroguen la resistencia inducida por los factores de resistencia a

15 fármacos en la leucemia linfocítica crónica intrínsecos, si se quieren hacer realidad avances adicionales en la terapia de esta enfermedad.

El factor uniformemente predictivo más extensamente estudiado para la mala respuesta a la terapia y para la sobrevivencia inferior en los pacientes con leucemia linfocítica crónica, es la

20 función aberrante de p53, como se caracteriza por las mutaciones puntuales o las supresiones del cromosoma 17p13. En realidad, virtualmente no se han documentado respuestas ya sea a la terapia con alquilador o bien a la terapia con análogo de purina en múltiples series de casos institucionales individuales para los pacientes de

25 leucemia linfocítica crónica con una función anormal de p53. La

introducción de un agente terapéutico que tenga la capacidad para superar la resistencia a fármacos asociada con la mutación de p53 en la leucemia linfocítica crónica, sería potencialmente un importante avance para el tratamiento de la enfermedad.

5 El flavopiridol y CYC 202, los inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina, inducen la apoptosis *in vitro* de las células malignas a partir de la leucemia linfocítica crónica de células-B (B-CLL).

10 La exposición al flavopiridol da como resultado el estímulo de la actividad de caspasa 3, y la disociación dependiente de caspasa de p27(kip1), un regulador negativo del ciclo celular, que se sobreexpresa en la leucemia linfocítica crónica de células-B (Blood. 15 de noviembre de 1998; 92(10):3804-16 Flavopiridol induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells via activation of caspase-3
15 without evidence of bcl-2 modulation or dependence on functional p53. Byrd JC, Shinn C, Waselenko JK, Fuchs EJ, Lehman TA, Nguyen PL, Flinn IW, Diehl LF, Sausville E, Grever MR).

Técnica Anterior

20 La Publicación Internacional Número WO 02/34721 de Du Pont, da a conocer una clase de indeno[1,2-c]pirazol-4-onas como inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina.

Publicación Internacional Número WO 01/81348 de Bristol Myers Squibb describe el uso de 5-tio-, sulfinil- y sulfonil-pirazolo[3,4-b]-piridinas, como inhibidores de cinasa dependiente de ciclina.
25

La Publicación Internacional Número WO 00/62778 también de Bristol Myers Squibb, da a conocer una clase de inhibidores de cinasa de proteína tirosina.

5 La Publicación Internacional Número WO 01/72745A1 de Cyclacel, describe 4-heteroaril-pirimidinas 2-sustituidas y su preparación, composiciones farmacéuticas que las contienen, y su uso como inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina (CDKs), y por consiguiente, su uso en el tratamiento de trastornos proliferativos, tales como cáncer, leucemia, psoriasis, y similares.

10 La Publicación Internacional Número WO 99/21845 de Agouron, describe derivados de 4-aminotiazol para inhibir las cinasas dependientes de ciclina (CDKs), tales como CDK1, CDK2, CDK4, y CDK6. La invención también se refiere al uso terapéutico o profiláctico de composiciones farmacéuticas que contienen estos
15 compuestos, y a métodos para el tratamiento de malignidades y otros trastornos mediante la administración de cantidades efectivas de estos compuestos.

La Publicación Internacional Número WO 01/53274 de Agouron da a conocer inhibidores de cinasa dependiente de ciclina, una clase
20 de compuestos que pueden comprender un anillo de benceno sustituido por amida enlazado a un grupo heterocíclico que contiene N.

La Publicación Internacional Número WO 01/98290 (Pharmacia & Upjohn) da a conocer una clase de derivados de 3-amino-carbonil-2-carboxamido-tiofeno como inhibidores de la cinasa de proteína.

25 Las Publicaciones Internacionales Números WO 01/53268 y WO

01/02369 de Agouron, dan a conocer compuestos que median o inhiben la proliferación celular a través de la inhibición de las cinasas de proteína, tales como la cinasa dependiente de ciclina o la cinasa de tirosina. Los compuestos de Agouron tienen un anillo de arilo o heteroarilo unido directamente o a través de un grupo $\text{CH}=\text{CH}$ ó $\text{CH}=\text{N}$ a la posición 3 de un anillo de indazol.

Las Publicaciones Internacionales Números WO 00/39108 y WO 02/00651 (ambas de Du Pont Pharmaceuticals) describen compuestos heterocíclicos que son inhibidores de las enzimas de proteasa de serina tipo tripsina, en especial el factor Xa y la trombina. Se menciona que los compuestos son útiles como anti-coagulantes, o para la prevención de trastornos tromboembólicos.

Las Patentes Números US 2002/0091116 (Zhu y colaboradores), WO 01/19798 y WO 01/64642, dan a conocer cada una diversos grupos de compuestos heterocíclicos como inhibidores del factor Xa. Se dan a conocer y se ejemplifican algunas pirazol-carboxamidas 1-sustituidas.

Las Patentes Números US 6,127,382, WO 01/70668, WO 00/68191, WO 97/48672, WO 97/19052 y WO 97/19062 (todas a Allergan), describen cada una compuestos que tienen actividad de tipo retinoide para utilizarse en el tratamiento de diferentes enfermedades hiperproliferativas, incluyendo cánceres.

La Publicación Internacional Número WO 02/070510 (Bayer) describe una clase de compuestos de amino-ácido dicarboxílico para utilizarse en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Aunque se mencionan los pirazoles genéricamente, no hay ejemplos específicos de pirazoles en este documento.

La Publicación Internacional Número WO 97/03071 (Knoll AG) da a conocer una clase de derivados de heterocicli-carboxamida, para utilizarse en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central. Se mencionan los pirazoles en general como ejemplos de grupos heterocíclicos, pero no se dan a conocer ni se ejemplifican compuestos de pirazol específicos.

La Publicación Internacional Número WO 97/40017 (Novo Nordisk) describe compuestos que son moduladores de fosfatasas de la proteína tirosina.

La Publicación Internacional Número WO 03/020217 (Univ. Connecticut) da a conocer una clase de pirazol-3-carboxamidas como moduladores del receptor canabinoide para el tratamiento de condiciones neurológicas. Se menciona (página 15) que los compuestos se pueden utilizar en la quimioterapia de cáncer, pero no queda claro si los compuestos son activos como agentes contra el cáncer, o si se administran para otros propósitos.

La Publicación Internacional Número WO 01/58869 (Bristol Myers Squibb) da a conocer moduladores del receptor canabinoide que se pueden utilizar, entre otras cosas, para tratar una variedad de enfermedades. El uso principal previsto es el tratamiento de enfermedades respiratorias, aunque se hace referencia al tratamiento de cáncer.

La Publicación Internacional Número WO 01/02385 (Aventis

Crop Science) da a conocer derivados de 1-(quinolin-4-il)-1H-pirazol como fungicidas. Se dan a conocer pirazoles 1-insustituídos como intermediarios sintéticos.

La Publicación Internacional Número WO 2004/039795 (Fujisawa) da a conocer amidas que contienen un grupo pirazol 1-sustituído, como inhibidores de la secreción de apolipoproteína B. Se menciona que los compuestos son útiles en el tratamiento de condiciones tales como hiperlipidemia.

La Publicación Internacional Número WO 2004/000318 (Cellular Genomics) da a conocer diferentes monociclos amino-sustituídos como moduladores de cinasa. Ninguno de los compuestos ejemplificados son pirazoles.

Breve Descripción de la Invención

La invención proporciona, entre otras cosas, sales de adición de ácido del compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y las formas cristalinas de las sales de adición de ácido, en particular las sales del ácido metansulfónico y del ácido acético.

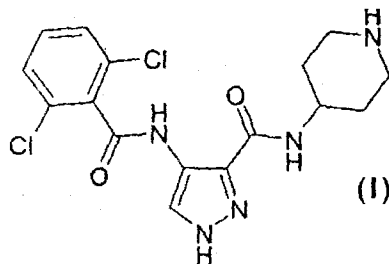
La invención también proporciona procesos novedosos para la preparación del compuesto, sus sales de adición de ácido, y las formas cristalinas del mismo, así como intermediarios químicos novedosos para utilizarse en los procesos.

La invención proporciona además usos terapéuticos del compuesto y sus sales de adición de ácido, así como los usos terapéuticos novedosos de los análogos de piperidin-4-ilamida del

ácido 4-(2,6-di-cloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

De conformidad con lo anterior, en un primer aspecto, la invención proporciona una sal de adición de ácido de 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, siendo la sal diferente de una sal de clorhidrato.

La base libre de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico a partir de la cual se derivan las sales, tiene la fórmula (I):



El compuesto de la fórmula (I) puede ser referido en esta solicitud por su nombre químico, o para mayor conveniencia, como "el compuesto", "el compuesto de la fórmula (I)", o "el compuesto de la invención". Cada uno de estos sinónimos se refiere al compuesto mostrado en la fórmula (I) anterior, y que tiene el nombre químico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

Las sales a las que se refiere esta solicitud son las sales de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico. Los términos "sal" y "sal de adición de ácido" se pueden utilizar de una manera intercambiable en esta solicitud, así como los términos "sales" y "sales de adición

de ácido". Los términos "sal" y "sales", como se utilizan en la presente, se refieren a las sales de adición de ácido, a menos que el contexto lo indique de otra manera.

Las referencias al compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido
5 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales de adición de ácido incluyen, dentro de su alcance, a todos los solvatos, tautómeros, e isótopos del mismo, y, cuando el contexto lo admita, los N-óxidos, otras formas iónicas, y profármacos.

La sal de adición de ácido se puede seleccionar a partir de las
10 sales formadas con un ácido seleccionado a partir del grupo que consiste en los ácidos acético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), aspártico (por ejemplo, L-aspártico), bencensulfónico, benzoico, canfórico (por ejemplo, (+)-canfórico), cáprico, caprílico, carbónico, cítrico, ciclámico, dodecanoato,
15 dodecilsulfúrico, etan-1,2-disulfónico, etansulfónico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), α -oxo-glutárico, glicólico, hipúrico, isetiónico, isobutírico, láctico (por ejemplo, (+)-L-láctico y ($\pm$)-DL-láctico), lactobiónico, laurilsulfónico,
20 maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, metansulfónico, múcico, naftalensulfónico (por ejemplo, naftalen-2-sulfónico), naftalen-1,5-disulfónico, nicotínico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tartárico (por ejemplo, (+)-L-tartárico), tiociánico, toluensulfónico
25 (por ejemplo, p-toluensulfónico), valérico, y xinafoico.

Un subgrupo de sales de adición de ácido incluye las sales formadas con un ácido seleccionado a partir del grupo que consiste en los ácidos acético, adípico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), aspártico (por ejemplo, L-aspártico), caproico, carbónico, cítrico, dodecanoico, fumárico, galactárico, glucoheptónico, glucónico (por ejemplo, D-glucónico), glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), glicólico, hipúrico, láctico (por ejemplo, (+)-L-láctico y ($\pm$)-DL-láctico), maleico, palmítico, fosfórico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tartárico (por ejemplo, (+)-L-tartárico), y tio-ciánico.

De una manera más particular, las sales son sales de adición de ácido formadas con un ácido seleccionado a partir de ácido metansulfónico y ácido acético, y mezclas de los mismos.

En una modalidad, la sal es una sal de adición de ácido formada con ácido metansulfónico.

En otra modalidad, la sal es una sal de adición de ácido formada con ácido acético.

Para mayor conveniencia, las sales formadas a partir de ácido metansulfónico y ácido acético pueden ser referidas en la presente como las sales de metansulfonato o mesilato y las sales de acetato, respectivamente.

En el estado sólido, las sales de la invención pueden ser cristalinas o amorfas, o una mezcla de las mismas.

En una modalidad, las sales son amorfas.

En un sólido amorfo, no existe la estructura tri-dimensional que

existe normalmente en una forma cristalina, y las posiciones de las moléculas unas en relación con otras en la forma amorfa son esencialmente aleatorias, ver, por ejemplo, Hancock y colaboradores, *J. Pharm. Sci.* (1997), 86, 1).

5 En otra modalidad, las sales son sustancialmente cristalinas; es decir, son del 50 por ciento al 100 por ciento cristalinas, y más particularmente pueden ser cuando menos el 50 por ciento cristalinas, o cuando menos el 60 por ciento cristalinas, o cuando menos el 70 por ciento cristalinas, o cuando menos el 80 por ciento
10 cristalinas, o cuando menos el 90 por ciento cristalinas, o cuando menos el 95 por ciento cristalinas, o cuando menos el 98 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.5 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.9 por ciento cristalinas, por ejemplo el 100 por ciento cristalinas.

15 En una modalidad adicional, las sales se seleccionan a partir del grupo que consiste en sales que son del 50 por ciento al 100 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 50 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 60 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 70 por ciento cristalinas, sales que
20 son cuando menos el 80 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 90 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 95 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 98 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 99 por ciento cristalinas, sales que son cuando menos el 99.5 por ciento cristalinas, y sales
25 que son cuando menos el 99.9 por ciento cristalinas, por ejemplo el

100 por ciento cristalinas.

De una manera más preferible, las sales pueden ser aquéllas (o se pueden seleccionar a partir del grupo que consiste en aquéllas) que son del 95 al 100 por ciento cristalinas, por ejemplo cuando
5 menos el 98 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.5 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.6 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.7 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.8 por ciento cristalinas, o cuando menos el 99.9 por ciento cristalinas, por ejemplo el 100 por
10 ciento cristalinas.

Un ejemplo de una sal sustancialmente cristalina es una sal cristalina formada con ácido metansulfónico.

Otro ejemplo de una sal sustancialmente cristalina es una sal cristalina formada con ácido acético.

15 Las sales de la invención, en el estado sólido, pueden estar solvatadas (por ejemplo, hidratadas) o no solvatadas (por ejemplo, anhidras).

En una modalidad, la sales están no solvatadas (por ejemplo, anhidras). Un ejemplo de una sal no solvatada es la sal cristalina
20 formada con ácido metansulfónico como se define en la presente.

El término "anhidra", como se utiliza en la presente, no excluye la posibilidad de la presencia de algo de agua sobre o dentro de la sal (por ejemplo, un cristal de la sal). Por ejemplo, puede haber algo de agua presente sobre la superficie de la sal (por ejemplo, cristal de
25 sal), o cantidades menores dentro del cuerpo de la sal (por ejemplo,

cristal). Típicamente, una forma anhidra contiene menos de 0.4 moléculas de agua por molécula de compuesto, y más preferiblemente contiene menos de 0.1 moléculas de agua por molécula de compuesto, por ejemplo, 0 moléculas de agua.

5 En otra modalidad, las sales están solvatadas. Cuando las sales están hidratadas, pueden contener, por ejemplo, hasta tres moléculas de agua de cristalización, más usualmente hasta dos moléculas de agua, por ejemplo una molécula de agua o dos moléculas de agua. También se pueden formar hidratos no
10 estequiométricos en donde el número de moléculas de agua presentes es menor que uno, o de otra manera no es un entero. Por ejemplo, cuando hay menos de una molécula de agua presente, puede haber, por ejemplo, 0.4, ó 0.5, ó 0.6, ó 0.7, ó 0.8, ó 0.9 moléculas de agua presentes por molécula de compuesto.

15 Otros solvatos incluyen alcoholatos, tales como etanolatos e isopropanolatos.

 Las sales de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto progenitor de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico mediante métodos
20 químicos convencionales, tales como los métodos descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 páginas, Agosto de 2002. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de compuesto
25 progenitor de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-

amino)-1H-pirazol-3-carboxílico con el ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, se utilizan medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, iso-propanol, o acetonitrilo.

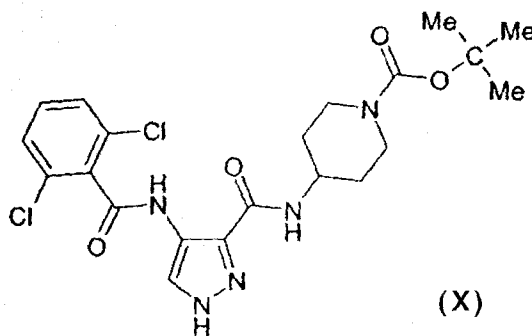
5 En otro aspecto, la invención proporciona un método para la preparación de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, cuyo método comprende formar una solución de la base libre de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-
10 carboxílico en un solvente (típicamente un solvente orgánico) o una mezcla de solventes, y tratar la solución con un ácido para formar un precipitado de la sal de adición de ácido.

El ácido se puede agregar como una solución en un solvente que sea miscible con el solvente en el que se disuelva la base libre.
15 El solvente en donde se disuelva inicialmente la base libre puede ser uno en donde sea insoluble la sal de adición de ácido de la misma. De una manera alternativa, el solvente en el que se disuelva inicialmente la base libre puede ser uno en el que la sal de adición de ácido sea cuando menos parcialmente soluble, agregándose
20 subsecuentemente un solvente diferente en donde la sal de adición de ácido sea menos soluble, de tal manera que se precipite la sal de la solución.

En un método alternativo para formar una sal de adición de ácido, la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-
25 1H-pirazol-3-carboxílico se disuelve en un solvente que comprenda

un ácido volátil y opcional-mente un co-solvente, para formar de esta manera una solución de la sal de adición de ácido con el ácido volátil, y la solución resultante entonces se concentra o se evapora para aislar la sal. Un ejemplo de una sal de adición de ácido que se puede hacer de esta manera es la sal de acetato.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para formar una sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en la presente, cuyo método comprende tratar un compuesto de la fórmula (X):



con un ácido orgánico o inorgánico como se define en la presente, diferente de ácido clorhídrico, en un solvente orgánico, para remover el grupo terbutiloxi-carbonilo y formar una sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico con un ácido orgánico o inorgánico, y opcionalmente aislar la sal de adición de ácido así formada.

La sal típicamente se precipita a partir del solvente orgánico a

medida que se forma, y por consiguiente, se puede aislar mediante la separación del sólido a partir de la solución, por ejemplo mediante filtración.

Una forma de sal de la invención se puede convertir hasta la base libre y opcionalmente hasta otra forma de sal mediante métodos bien conocidos por la persona experta. Por ejemplo, la base libre se puede formar pasando la solución de sal a través de una columna que contenga una fase estacionaria de amina (por ejemplo, una columna Strata-NH₂). De una manera alternativa, una solución de la sal en agua se puede tratar con bicarbonato de sodio para descomponer la sal y precipitar la base libre. Entonces la base libre se puede combinar con otro ácido mediante uno de los métodos descritos anteriormente o en cualquier otra parte de la presente.

Las sales, tales como las sales de adición de ácido, tienen un número de ventajas sobre la base libre correspondiente. Por ejemplo, las sales disfrutarán de una o más de las siguientes ventajas sobre la base libre en que:

- serán más solubles, y por consiguiente, serán mejores para la administración intravenosa (por ejemplo, mediante infusión;
- tendrán una mejor estabilidad (por ejemplo, una mejor vida de anaquel);
- tendrán una mejor estabilidad térmica;
- serán menos básicas, y por consiguiente, mejores para la administración intravenosa;
- tendrán ventajas para la producción:

- tendrán una mejor solubilidad en una solución acuosa;
- tendrán mejores propiedades fisicoquímicas;
- pueden tener una mejor actividad contra el cáncer; y
- pueden tener un mejor índice terapéutico.

5 La forma de sal de metansulfonato es particularmente conveniente debido a su buena estabilidad a temperaturas elevadas y en condiciones de alta humedad relativa, su no higroscopicidad (como se define en la presente), ausencia de formación de polimorfos e hidratos, y estabilidad en condiciones acuosas. Más
10 aún, tiene una excelente solubilidad en agua y tiene mejores propiedades fisicoquímicas (tales como un alto punto de fusión) en relación con otras sales.

El término "estable" o "estabilidad", como se utiliza en la presente, incluye estabilidad química y estabilidad (física) en estado
15 sólido. El término "estabilidad química" significa que el compuesto se puede almacenar en una forma aislada, o en la forma de una formulación en la que se proporciona en mezcla con, por ejemplo, vehículos, diluyentes, o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, como se describen en la presente, bajo condiciones de
20 almacenamiento normales, con poca o ninguna degradación química o descomposición. "Estabilidad en estado sólido" significa que el compuesto se puede almacenar mezclado con, por ejemplo, vehículos, diluyentes, o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, como se describen en la presente, bajo condiciones de
25 almacenamiento normales, con poca o ninguna transformación del

estado sólido (por ejemplo, hidratación, deshidratación, solvatación, desolvatación, cristalización, recristalización, o transición de fases en estado sólido).

Los términos "no higroscópico" y "no higroscopicidad", y los
5 términos relacionados como se utilizan en la presente, se refieren a sustancias que absorben menos del 5 por ciento en peso (en relación con su propio peso) de agua cuando se exponen a condiciones de alta humedad relativa, por ejemplo a una humedad relativa del 90 por ciento, y/o no sufren cambios en forma cristalina en condiciones de
10 alta humedad, y/o no absorben agua hacia dentro del cuerpo del cristal (agua interna) en condiciones de alta humedad relativa.

Las sales preferidas para utilizarse en la preparación de las composiciones farmacéuticas líquidas (por ejemplo, acuosas) son las sales de adición de ácido (tales como mesilato y acetato, y mezclas
15 de los mismos, como se definen en la presente) que tengan solubilidad en un vehículo líquido dado (por ejemplo, agua) de más de 15 miligramos/ mililitro del vehículo líquido (por ejemplo, agua), más típicamente de más de 20 miligramos/mililitro, de preferencia de más de 25 miligramos/mililitro, y de una manera muy preferible de
20 más de 30 miligramos/mililitro.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una solución acuosa que contiene una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (tal como el mesilato y acetato, y
25 mezclas de los mismos, como se definen en la presente, y de

preferencia el mesilato) en una concentración mayor a 15 miligramos/ mililitro, típicamente mayor a 20 miligramos/mililitro, de preferencia mayor a 25 miligramos/mililitro, y de una manera muy preferible mayor a 30 miligramos/mililitro.

5 En una modalidad preferida, la composición farmacéutica comprende una solución acuosa que contiene una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico seleccionada a partir de una sal de acetato o metansulfonato, o una mezcla de los mismos, en una concentración
10 mayor a 15 miligramos/mililitro, típicamente mayor a 20 miligramos/mililitro, de preferencia mayor a 25 miligramos/mililitro, y de una manera muy preferible mayor a 30 miligramos/mililitro.

En otro aspecto, la invención proporciona una solución acuosa de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-
15 (2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (tal como el mesilato o acetato, y mezclas de los mismos, como se definen en la presente), en donde la solución acuosa tiene un pH de 2 a 12, por ejemplo de 2 a 9, y más particularmente de 4 a 7.

En las soluciones acuosas definidas anteriormente, la sal de
20 adición de ácido puede ser cualquiera de las sales descritas en la presente, pero, en una modalidad preferida, es una sal de mesilato o acetato, como se define en la presente, y en particular la sal de mesilato.

La invención también proporciona una solución acuosa de
25 piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-

pirazol-3-carboxílico en una forma protonada, junto con uno o más contra-iones, y opcional-mente uno o más contra-iones adicionales. En una modalidad, uno de los contra-iones se selecciona a partir de metan-sulfonato y acetato. En otra modalidad, uno de los contra-
5 iones es a partir del regulador de formulación, como se describe en la presente, tal como acetato. En una modalidad adicional, puede haber uno o más contra-iones adicionales, tales como un ion de cloruro (por ejemplo, de suero).

Por consiguiente, la invención proporciona una solución acuosa
10 de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en una forma protonada, junto con uno o más contra-iones seleccionados a partir de metansulfonato y acetato, y opcionalmente uno o más contra-iones adicionales, tales como un ion de cloruro.

15 En la situación en la que hay más de un contra-ion, la solución acuosa de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en una forma protonada, contendrá potencialmente una mezcla de contra-iones, por ejemplo una mezcla de contra-iones de metansulfonato y acetato, y opcionalmente uno o
20 más contra-iones adicionales, tales como un ion de cloruro.

Por consiguiente, la invención proporciona una solución acuosa de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en una forma protonada, junto con uno o más
25 contra-iones seleccionados a partir de metansulfonato y acetato, y opcionalmente uno o más contra-iones adicionales, tales como un ion

de cloruro, y una mezcla de los mismos.

Las soluciones acuosas se pueden formar, entre otras cosas, mediante la disolución de una sal de mesilato en una solución de iones de acetato (por ejemplo, un regulador de acetato), o mediante la disolución de una sal de acetato en una solución de iones de mesilato. Los iones de mesilato y acetato pueden estar presentes en la solución en una proporción del mesilato:acetato de 10:1 o menos, por ejemplo de 10:1 a 1:10, más preferiblemente de menos de 8:1, o menos de 7:1, o menos de 6:1, o menos de 5:1, o menos de 4:1, o menos de 3:1, o menos de 2:1, o menos de 1:1, más particularmente de 1:1 a 1:10. En una modalidad, los iones de mesilato y acetato están presentes en la solución en una proporción del mesilato:acetato de 1:1 a 1:10, por ejemplo de 1:1 a 1:8, o de 1:1 a 1:7, o de 1:1 a 1:6, o de 1:1 a 1:5, por ejemplo de aproximadamente 1:4.8.

Las soluciones acuosas de las sales pueden tener el pH regulado o no regulado, pero en una modalidad lo tienen regulado.

En el contexto de la sal de adición de ácido formada con ácido metansulfónico, un regulador del pH preferido es un regulador formado a partir de ácido acético y acetato de sodio, por ejemplo, a un pH de la solución de aproximadamente 4.6. A este pH y en el regulador de acetato, la sal de ácido metansulfónico tiene una solubilidad de aproximadamente 35 miligramos/mililitro.

Las sales de la invención son por lo regular sales farmacéuticamente aceptables, y los ejemplos de las sales

farmacéuticamente aceptables se describen en Berge y colaboradores, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts", *J. Pharm. Sci.*, Volumen 66, páginas 1-19. Sin embargo, también se pueden preparar sales que no sean farmacéuticamente aceptables como formas intermediarias, las cuales luego se pueden convertir en las sales farmacéuticamente aceptables. Estas formas de sal no farmacéuticamente aceptables, por consiguiente, también forman parte de la invención.

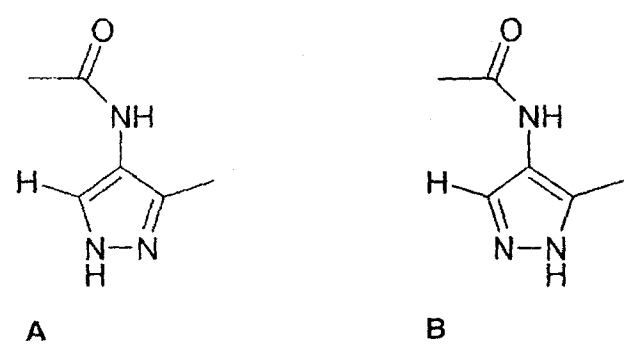
El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico también puede formar N-óxidos. Los N-óxidos se pueden formar mediante el tratamiento de la amina correspondiente con un agente oxidante, tal como peróxido de hidrógeno o un per-ácido (por ejemplo, un ácido peroxycarboxílico), ver, por ejemplo, *Advanced Organic Chemistry*, por Jerry March, 4^a Edición, Wiley Interscience, páginas. De una manera más particular, los N-óxidos se pueden hacer mediante el procedimiento de L. W. Deady (*Syn. Comm.* 1977, 7, 509-514) en donde el compuesto de amina se hace reaccionar con ácido m-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por ejemplo, en un solvente inerte, tal como diclorometano.

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, a partir del cual se derivan las sales de adición de ácido de la invención, puede existir en un número de formas tautoméricas diferentes, y las referencias en esta solicitud al compuesto incluyen a todas estas formas.

De una manera más particular, en las sales de adición de ácido de la invención, el anillo de pirazol de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico puede existir en las dos formas tautoméricas A y B que se encuentran en seguida.

5 Para mayor simplicidad, las fórmulas de esta solicitud muestran solamente la forma A, pero no obstante, se debe interpretar que las fórmulas abarcan ambas formas tautoméricas.

10



15

Más aún, en el contexto de las sales de adición de ácido de la invención, las referencias a la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales, también incluyen a las variantes con una o más sustituciones isotópicas, y una referencia a un elemento particular incluye dentro de su alcance a todos los isótopos del elemento. Por ejemplo, una referencia a hidrógeno incluye, dentro de su alcance, a ^1H , ^2H (D), y ^3H (T). De

20 una manera similar, las referencias a carbono y oxígeno incluyen, dentro de su alcance, respectivamente ^{12}C , ^{13}C , y ^{14}C , y ^{16}O y ^{18}O .

25

Los isótopos pueden ser radioactivos o no radioactivos. En una modalidad de la invención, los compuestos no contienen isótopos radioactivos. Estos compuestos son los preferidos para uso

terapéutico. Sin embargo, en otra modalidad, el compuesto puede contener uno o más radioisótopos. Los compuestos que contienen estos radioisótopos pueden ser útiles en el contexto de diagnóstico.

Las referencias a las sales de adición de ácido (por ejemplo, la sal de mesilato) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, también abarcan cualesquiera formas polimórficas, solvatos (por ejemplo, hidratos), complejos (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclo-dextrinas, o complejos con metales) de las mismas.

Estructuras de cristal de las sales de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

Como se describe anteriormente, las sales de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico pueden ser amorfas o sustancialmente cristalinas. En una modalidad particular, las sales son sustancialmente cristalinas, teniendo el término "sustancialmente cristalinas" el significado definido anteriormente. En particular, las sales de mesilato y acetato de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico son sustancialmente cristalinas.

Los cristales descritos en la presente y sus estructuras de cristal, forman aspectos adicionales de la invención.

Los cristales y sus estructuras de cristal se pueden caracterizar empleando un número de técnicas, incluyendo cristalografía de rayos-X de un solo cristal, difracción en polvo de rayos-X (XRPD), calorimetría de exploración diferencial (DSC), y espectroscopía infrarroja, por ejemplo, espectroscopía infrarroja de Transformación Fourier (FTIR). El comportamiento de los cristales bajo condiciones de humedad variable se puede analizar mediante estudios de sorción de vapor gravimétrica, y también mediante difracción en polvo de rayos-X.

La determinación de la estructura del cristal de un compuesto se puede llevar a cabo mediante cristalografía de rayos-X, la cual se puede llevar a cabo de acuerdo con los métodos convencionales, tales como los descritos en la presente y en *Fundamentals of Crystallography*, C. Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti, y M. Catti (International Union of Crystallography/ Oxford University Press, 1992 ISBN 0-19-855578-4 (p/b), 0-19-85579-2 (h/b)). Esta técnica involucra el análisis y la interpretación de la difracción de rayos-X de un solo cristal.

La estructura del cristal de la sal de ácido metan-sulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico se ha determinado mediante cristalografía de rayos-X - ver el Ejemplo 2 más adelante.

La Tabla 2 da los datos de coordenadas para los cristales de la sal de mesilato de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico que se encuentra en Formato

de *Crystallographic Information File (CIF)* (ver Hall, Allen y Brown, *Acta Cryst.* (1991). A47, 655-685; <http://www.iucr.ac.uk/iucr-top/cif/home.html>). Se pueden utilizar formatos de archivo alternativos, tales como el formato de archivo PDB (por ejemplo, el formato consistente con aquél de la EBI Macromolecular Structure Database (Base de Datos de Estructuras Macromoleculares EBI) (Hinxton, Reino Unido)), o pueden ser preferidos por otros expertos en la materia. Sin embargo, será aparente que el uso de un formato de archivo diferente para presentar o manipular las coordenadas de las Tablas, está dentro del alcance de la presente invención. La estructura del cristal de la sal de mesilato se ilustra en las Figuras 1 y 2.

A partir de los estudios de cristalografía de rayos-X, se ha encontrado que la sal de mesilato tiene una estructura de cristal que pertenece a un grupo de espacio orto-rómbico, tal como *Pbca* (# 61), y tiene los parámetros de la celosía de cristal en 93 K $a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$.

De conformidad con lo anterior, la invención proporciona una sal de ácido metansulfónico de la sal de mesilato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual es cristalina, y:

(a) tiene una estructura de cristal como se estipula en las Figuras 1 y 2; y/o

(b) tiene una estructura de cristal como se define por las coordenadas del Ejemplo 2 de la presente; y/o

(c) tiene parámetros de la celosía del cristal en 93 K $a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$; y/o

(d) tiene una estructura de cristal que pertenece a un grupo de espacio orto-rómbico, tal como *Pbca* (# 61).

5 De una manera alternativa, se puede analizar la estructura cristalina de un compuesto mediante la técnica en estado sólido de Difracción en Polvo de Rayos-X (XRPD). La Difracción en Polvo de Rayos-X se puede llevar a cabo de acuerdo con los métodos convencionales, tales como aquéllos descritos en la presente (ver el
10 Ejemplo 6) y en *Introduction to X-ray Power Diffraction*, Ron Jenkins y Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, Nueva York, 1996). La presencia de picos definidos (opuestamente al ruido de fondo aleatorio) en un difractograma de Difracción en Polvo de Rayos-X, indica que el compuesto tiene un grado de cristalinidad.

15 El patrón en polvo de rayos-X de un compuesto se caracteriza por los parámetros del ángulo de difracción (2θ) y el espacio interplanar (d) de un espectro de difracción de rayos-X. Éstos se relacionan mediante la ecuación de Bragg, $n\lambda=2d \sin \theta$ (en donde $n=1$; λ =longitud de onda del cátodo utilizado; d =espacio interplanar;
20 y θ =ángulo de difracción). En la presente, los espacios interplanares, el ángulo de difracción, y el patrón global, son importantes para la identificación del cristal en la difracción en polvo de rayos-X, debido a las características de los datos. La intensidad relativa no se debe interpretar estrictamente, debido a que puede variar dependiendo de
25 la dirección de crecimiento del cristal, de los tamaños de partículas,

y de las condiciones de la medición. En adición, los ángulos de difracción normalmente significan aquéllos que coincidan en el intervalo de $2\theta=0.2^\circ$. Los picos significan los picos principales, e incluyen picos no mayores de medianos en ángulos de difracción diferentes de los mencionados anteriormente.

Tanto las sales de ácido acético como de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, se han caracterizado mediante difracción en polvo de rayos-X.

La sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X esencialmente como se muestra en la Figura 3.

La sal de ácido acético de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X esencialmente como se muestra en la Figura 4.

En cada caso, los patrones de difracción de rayos-X se expresan en términos del ángulo de difracción (2θ), del espacio interplanar (d), y de las intensidades relativas.

De conformidad con lo anterior, en otra modalidad, la invención proporciona una sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico sustancialmente cristalina, que tiene un patrón en polvo de rayos-X caracterizado por la presencia de picos mayores en los ángulos de

difracción (2θ) y espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla A.

Tabla A

$2\theta / ^\circ$	$d / \text{\AA}$
16.60	5.34
18.30	4.85
18.45	4.81
19.45	4.56
22.90	3.88

El patrón de difracción en polvo de rayos-X de preferencia se caracteriza adicionalmente por la presencia de picos adicionales en los ángulos de difracción (2θ) y en los espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla B.

Tabla B

$2\theta / ^\circ$	$d / \text{\AA}$
12.80	6.91
21.40	4.15
22.00	4.04
23.50	3.78
25.00	3.56

El patrón de difracción en polvo de rayos-X también se puede caracterizar por la presencia de picos en los ángulos de difracción (2θ) y en los espacios interplanares (d), y de preferencia las intensidades mostradas en la Tabla C.

Tabla C

$2\theta / ^\circ$	$d / \text{\AA}$	I
4.55	19.41	12
10.80	8.19	9
12.25	7.22	15
12.80	6.91	56
13.40	6.60	12
13.55	6.53	26
14.00	6.32	7
14.75	6.00	8
15.50	5.71	25
16.60	5.34	100
17.30	5.12	15
17.75	4.99	16
18.30	4.85	90
18.45	4.81	65
19.45	4.56	65
20.80	4.27	18
21.40	4.15	40

5

10

22.00	4.04	42
22.90	3.88	71
23.50	3.78	45
23.90	3.72	27
24.40	3.65	32
25.00	3.56	61
26.00	3.43	18
26.50	3.36	20
27.00	3.30	30
28.00	3.18	14
28.40	3.14	14
28.70	3.11	17

15

La invención proporciona además una sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico sustancialmente cristalina, la cual exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 3. De preferencia, los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 3.

20

En una modalidad preferida, la invención proporciona una sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico sustancialmente cristalina, que tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente como se muestra en la Figura 3.

25

La invención también proporciona una sal de ácido acético de

la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico sustancialmente cristalina, la cual exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 4. De preferencia, los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 4.

En una modalidad preferida, la invención proporciona una sal de ácido acético de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico sustancialmente cristalina, que tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente como se muestra en la Figura 4.

Las sales de adición de ácido cristalinas de la invención también se pueden caracterizar mediante calorimetría de exploración diferencial (DSC).

La sal de mesilato se ha analizado mediante calorimetría de exploración diferencial, y exhibe un pico a 379.8°C debido a la descomposición del compuesto.

De conformidad con lo anterior, en otro aspecto, la invención proporciona una sal de mesilato de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual es anhidra y exhibe un pico endotérmico a 379-380°C, por ejemplo a 379.8°C, cuando se somete a calorimetría de exploración diferencial.

La sal de acetato se ha analizado mediante calorimetría de exploración diferencial, y exhibe un pico a 231.50°C debido a la pérdida de ácido acético, y un pico adicional a 292.88°C debido a la

descomposición del compuesto. La ausencia de picos a temperaturas más bajas indica que la sal de acetato es anhidra.

De acuerdo con lo anterior, en otro aspecto, la invención proporciona una sal de ácido acético de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual es anhidra y exhibe picos endotérmicos a 231-232°C (por ejemplo, a 231.50°C) y a 292-293°C (por ejemplo, a 292.88°C) cuando se somete a calorimetría de exploración diferencial.

Cuando la sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico es sustancialmente cristalina, puede predominar una sola forma cristalina, aunque pueden estar presentes otras formas cristalinas en cantidades menores y de preferencia negligibles.

En una modalidad preferida, la invención proporciona una sal de adición de ácido sustancialmente cristalina (por ejemplo, una sal de mesilato o acetato como se define en la presente) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual contiene una sola forma cristalina de la sal de adición de ácido, y no más del 5 por ciento en peso de cualesquiera otras formas cristalinas de la sal de adición de ácido.

De preferencia, la única forma cristalina está acompañada por menos del 4 por ciento, o menos del 3 por ciento, o menos del 2 por ciento de otras formas cristalinas, y en particular contiene menos o igual a aproximadamente el 1 por ciento en peso de otras formas cristalinas. De una manera más preferible, la única forma cristalina

57

está acompañada por menos del 0.9 por ciento, o menos del 0.8 por ciento, o menos del 0.7 por ciento, o menos del 0.6 por ciento, o menos del 0.5 por ciento, o menos del 0.4 por ciento, o menos del 0.3 por ciento, o menos del 0.2 por ciento, o menos del 0.1 por ciento, o menos del 0.05 por ciento, o menos del 0.01 por ciento en peso de otras formas cristalinas, por ejemplo, el 0 por ciento en peso de otras formas cristalinas.

Las sales de adición de ácido sustancialmente cristalinas de preferencia están sustancialmente exentas de solvente orgánico residual utilizado, por ejemplo, para recrystalizar o purificar de otra manera la sal, u otro solvente, tal como agua.

Por consiguiente, en una modalidad, los cristales de las sales de adición de ácido (por ejemplo, las sales de metansulfonato o de acetato) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, son cristales que contienen menos del 10 por ciento en peso de solvente residual (por ejemplo, agua o un solvente orgánico), por ejemplo menos del 5 por ciento de solvente residual, por ejemplo menos del 4 por ciento, o menos del 3 por ciento, o menos del 2 por ciento, o menos del 1 por ciento, o menos del 0.5 por ciento de solvente.

En una modalidad, las sales de adición de ácido cristalinas (por ejemplo, las sales de metansulfonato o de acetato) son anhidras, teniendo el término "anhidras" el significado definido anteriormente.

La sal de metansulfonato puede existir en una forma cristalina

57

anhidra estable que, aunque absorba algo del agua superficial en condiciones de alta humedad relativa, no sufra cambios en la estructura del cristal bajo tales condiciones.

El comportamiento de las sales de adición de ácido de la invención en condiciones de alta humedad se puede analizar mediante métodos convencionales de sorción de vapor gravimétrica (GVS), por ejemplo como se describe en el Ejemplo 7.

Las sales de adición de ácido de la invención se pueden caracterizar adicionalmente mediante espectroscopía infrarroja, por ejemplo, FTIR.

El espectro infrarrojo de la sal de metansulfonato (método de disco de KBr) contiene picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} .

De conformidad con lo anterior, en una modalidad adicional, la invención proporciona una sal de ácido metansulfónico (de preferencia sustancialmente cristalina) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, que exhibe un espectro infrarrojo, cuando se analiza utilizando el método de disco de KBr, que contiene picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} .

Como será evidente a partir de los párrafos anteriores, las sales de adición de ácido de la invención se pueden caracterizar por un número de diferentes parámetros fisicoquímicos. De conformidad con lo anterior, en una modalidad preferida, la invención proporciona una sal de ácido metansulfónico de la sal de mesilato de piperidin-4-

ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual es cristalina, y se caracteriza por cualquiera o más (en cualquier combinación) o todos los siguientes parámetros, es decir, que la sal:

5 (a) tiene una estructura de cristal como se estipula en las Figuras 1 y 2; y/o

(b) tiene una estructura de cristal como se define mediante las coordenadas del Ejemplo 2 de la presente; y/o

10 (c) tiene parámetros de celosía de cristal en 93 K $a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$; y/o

(d) tiene una estructura de cristal que pertenece a un grupo de espacio orto-rómbico, tal como *Pbca* (# 61); y/o

15 (e) tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X caracterizado por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ) y en los espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla A, y opcionalmente en la Tabla B; por ejemplo, en donde el patrón de difracción en polvo de rayos-X se caracteriza por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ), espacios interplanares (d), e intensidades, como se estipulan en la
20 Tabla C de la presente; y/o

(f) exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 3, y opcionalmente, en donde los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 3; y/o

25 (g) tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X

sustancialmente como se muestra en la Figura 3; y/o

(h) es anhidra y exhibe un pico endotérmico a 379-380°C, por ejemplo a 379.8°C, cuando se somete a calorimetría de exploración diferencial; y/o

5 (i) exhibe un espectro infrarrojo, cuando se analiza empleando el método de disco de KBr, que contiene picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} .

10 Procesos para la preparación de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

En el Ejemplo 237 de nuestra solicitud anterior PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), se da a conocer que la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico se puede preparar mediante una secuencia de
15 pasos, incluyendo:

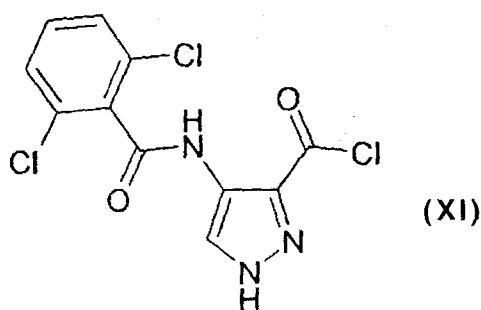
(i) hacer reaccionar el ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico con 4-amino-1-terbutiloxi-carbonil-piperidina en la presencia de 1-etil-3-(3'-dimetil-amino-propil)-carbodi-imida (EDC) y 1-hidroxibenzo-triazol (HOBt) en dimetil-formamida (DMF),
20 para dar la forma protegida N-Boc de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico; y

(ii) remover el grupo protector de Boc mediante su tratamiento con ácido clorhídrico.

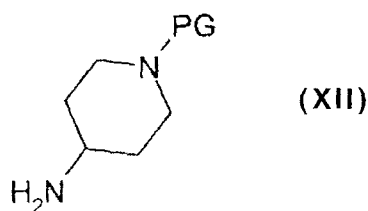
Ahora se ha encontrado que, en lugar de utilizar EDC y HOBt
25 para promover la formación del enlace de amida, se puede hacer

reaccionar el cloruro de ácido del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico con una 4-amino-piperidina, en donde se protege el nitrógeno de piperidina.

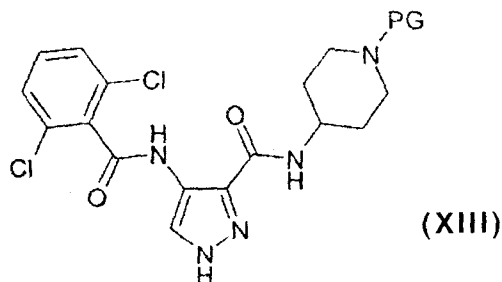
De conformidad con lo anterior, en otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la preparación de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma, cuyo proceso comprende la reacción de un compuesto de la fórmula (XI):



con un compuesto de la fórmula (XII):



en donde PG es un grupo protector de amina, en un solvente orgánico, en la presencia de una base que no interfiera, tal como trietil-amina, para dar un compuesto de la fórmula (XIII):



y posteriormente remover el grupo protector PG para dar la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o la sal de la misma; y opcionalmente recristalizar la sal para dar una forma cristalina, por ejemplo, una forma cristalina como se define en la presente.

El grupo protector de amina PG puede ser cualquier grupo protector que se sepa que se usa en la protección de grupos amina de acuerdo con las condiciones empleadas en el proceso anterior. Los ejemplos de los grupos protectores, y los métodos para proteger y desproteger grupos funcionales, se pueden encontrar en *Protective Groups in Organic Synthesis* (T. Green y P. Wuts; 3ª Edición; John Wiley and Sons, 1999). Por consiguiente, por ejemplo, el nitrógeno del anillo de piperidina se puede proteger como una amida (NCO-R) o como un uretano (NCO-OR), por ejemplo como: una metil-amida (NCO-CH₃); una benciloxi-amida (NCO-OCH₂C₆H₅, -NH-Cbz); como una terbutoxi-amida (-NCO-OC(CH₃)₃, N-Boc); una 2-bifenil-2-propoxi-amida (NCO-OC(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅, N-Bpoc), como una 9-fluorenil-metoxi-amida (N-Fmoc), como una 6-nitro-veratriloxi-amida (N-Nvoc), como una 2-trimetil-silil-etiloxi-amida (N-Teoc), como una 2,2,2-tricloro-etiloxi-amida (N-Troc), como una aliloxi-amida (N-

Alloc), o como una 2-(fenil-sulfonil)-etiloxi-amida (-N-Psec). Otros grupos protectores para aminas incluyen los grupos toluensulfonilo (tosilo) y metansulfonilo (mesilo), y los grupos bencilo, tales como el grupo *para*-metoxi-bencilo (PMB). Los grupos protectores de amina preferidos son un uretano (NCO-OR), por ejemplo, una benciloxi-amida (NCO-OCH₂H₆H₅, -NH-Cbz), o una *tert*butoxi-amida (-NCO-OC(CH₃)₃, N-Boc); una aliloxi-amida (N-Alloc), o un grupo *para*-metoxi-bencilo (PMB). Un grupo protector PG particularmente preferido es el *tert*butiloxi-carbonilo, el cual se puede remover bajo condiciones ácidas.

Cuando el grupo protector PG es uno que se pueda remover bajo condiciones ácidas, el ácido seleccionado para remover el grupo protector PG se puede seleccionar de tal manera que se proporcione la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en una forma de sal particular. Por consiguiente, por ejemplo, cuando el grupo protector es un grupo Boc, se puede utilizar ácido clorhídrico para disociar el grupo protector Boc y producir la sal de clorhidrato de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico. De una manera alternativa, y más preferiblemente, se puede utilizar el ácido metansulfónico para disociar el grupo Boc y producir la sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

La invención también proporciona un método para la preparación de un intermediario de la fórmula (XIII), mediante la

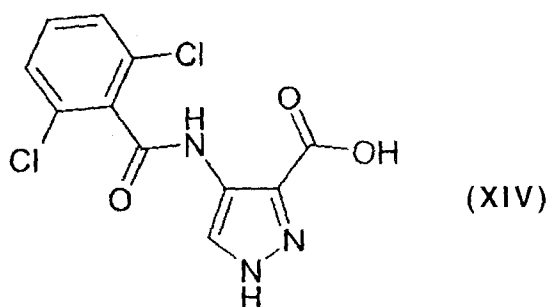
reacción del compuesto de la fórmula (XI) con el compuesto de la fórmula (XII) bajo las condiciones definidas en la presente.

La invención proporciona además un intermediario químico novedoso por sí mismo, de la fórmula (XIV).

5 En otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la preparación de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma, cuyo proceso comprende:

(i) tratar un compuesto de la fórmula (XIV):

10



15

con cloruro de tionilo en un solvente orgánico no prótico, opcionalmente con calentamiento;

(ii) hacer reaccionar el producto del paso (i) con un compuesto de la fórmula (XII) en la presencia de una base que no interfiera, tal como trietil-amina, opcionalmente con calentamiento, para dar un compuesto de la fórmula (XIII); y

(iii) remover el grupo protector PG del compuesto de la fórmula (XIII), para dar la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma; y opcionalmente,

25

(iv) recristalizar la sal para dar una forma cristalina, por ejemplo una forma cristalina como se define en la presente.

En el paso (i), la reacción con cloruro de tionilo se puede llevar a cabo con calentamiento, por ejemplo a una temperatura en el intervalo de 80°C a 100°C. El solvente en el que se lleva a cabo el paso (i) es un solvente orgánico no prótico, y puede ser, por ejemplo, un solvente de hidrocarburo aromático, tal como tolueno. En seguida de la terminación de la reacción del paso (i), como sea juzgado, por ejemplo, por la desaparición del material de partida (XIV), se puede remover el solvente orgánico, por ejemplo mediante evaporación bajo presión reducida, para dar un residuo, el cual se puede secar adicionalmente, por ejemplo mediante secado azeotrópico, para dar un residuo. Entonces el residuo se puede hacer reaccionar con el compuesto de la fórmula (XII) en el paso (ii).

En el paso (ii), se utiliza una base que no interfiera. El término "base que no interfiera" en el presente contexto, significa una base tal como trietil-amina, la cual no formará una amida con el ácido (XIII) o con el cloruro de ácido (XI).

El paso (ii) típicamente se lleva a cabo con calentamiento moderado, por ejemplo a una temperatura hasta de aproximadamente 55°C, más típicamente hasta 50°C, por ejemplo una temperatura en el intervalo de 45°C a 50°C.

En el paso (ii), la reacción se puede llevar a cabo en un solvente aprótico polar, tal como tetrahidrofurano.

En el paso (iii), el grupo protector de preferencia es uno tal

como el grupo Boc, que se puede remover mediante su tratamiento con ácido, seleccionándose el ácido como para dar lugar a una sal deseada de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, por ejemplo la sal de ácido metansulfónico.

En seguida del paso (iii), el producto se puede someter a recristalización (por ejemplo, utilizando 2-propanol como el solvente), para aumentar la pureza y para dar una forma cristalina.

Cuando el grupo protector PG es un grupo terbutiloxi-carbonilo, el rendimiento global de los pasos (i), (ii), y (iii) del proceso, sin incluir pasos de recristalización, es mayor del 85 por ciento. Adicionalmente, el proceso es conveniente porque hace uso de reactivos y solventes relativamente simples y económicos, y da el producto con una pureza mayor que el 99 por ciento empleando solamente una simple recristalización y técnicas de lavado con solvente, y sin la necesidad de cromatografía.

Los métodos de recristalización de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales, se pueden llevar a cabo mediante métodos bien conocidos por la persona experta - ver, por ejemplo (P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Handbook of Pharmaceutical Salts: *Properties, Selection, and Use*, Capítulo 8, Editorial Wiley-VCH). Los productos obtenidos a partir de una reacción orgánica rara vez son puros cuando se aíslan directamente de la mezcla de reacción. Si el compuesto (o una sal del mismo) es

un sólido, se puede purificar y/o cristalizar mediante recristalización a partir de un solvente adecuado. Un buen solvente de recristalización debe disolver una cantidad moderada de la sustancia que se vaya a purificar a temperaturas elevadas, pero solamente una pequeña cantidad de la sustancia a una temperatura más baja. Debe disolver las impurezas fácilmente a bajas temperaturas, o no del todo. Finalmente, el solvente debe ser fácilmente removido del producto purificado. Esto usualmente significa que tiene un punto de ebullición relativamente bajo, y una persona experta en la materia conocerá los solventes de recristalización para una sustancia particular, o si no está disponible esta información, probará varios solventes. Con el fin de obtener un buen rendimiento del material purificado, se utiliza la cantidad mínima de solvente caliente para disolver todo el material impuro. En la práctica, se utiliza del 3 al 5 por ciento más solvente que el necesario para que la solución no se sature. Si el compuesto impuro contiene una impureza que sea insoluble en el solvente, entonces se puede remover mediante filtración, y luego se permite a la solución cristalizarse. En adición, si el compuesto impuro contiene trazas de material coloreado que no sean nativas del compuesto, se pueden remover mediante la adición de una pequeña cantidad de carbón decolorante a la solución caliente, filtrándola, y luego dejando que se cristalice. Normalmente, la cristalización se presenta de una manera espontánea al enfriarse la solución. Si no es así, la cristalización se puede inducir mediante el enfriamiento de la solución debajo de la temperatura ambiente, o

mediante la adición de un solo cristal del material puro (un cristal de siembra). La recrystalización también se puede llevar a cabo, y/o el rendimiento se puede optimizar, mediante la utilización de un anti-solvente. En este caso, el compuesto se disuelve en un solvente adecuado a temperatura elevada, se filtra, y luego se agrega solvente adicional en el que el compuesto requerido tenga una baja solubilidad, para ayudar a la cristalización. Entonces los cristales se aíslan empleando filtración al vacío, se lavan, y luego se secan, por ejemplo, en un horno o mediante disecación.

En algunos casos, pueden quedar trazas de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico protegida por Boc, inclusive después de la recrystalización, y éstas pueden formar un precipitado cuando se disuelva la sal de adición de ácido de la invención en agua, por ejemplo, en una solución con el pH regulado. Por consiguiente, las soluciones acuosas de las sales de adición de ácido se pueden someter a filtración a través de un microfiltro, por ejemplo un filtro de 0.5 micras, o un filtro de 0.4 micras, o un filtro de 0.3 micras, o más preferible-mente un filtro de 0.2 micras, para remover cualquier precipitado.

Como una alternativa (o en adición) a la filtración, una solución acuosa de la sal se puede someter a calentamiento en la presencia de un ácido, típicamente el mismo ácido (por ejemplo, ácido metansulfónico en el caso de la sal de mesilato) a partir del cual se haya formado la sal. El tratamiento con ácido adicional da como resultado la hidrólisis de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-

dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico protegida por Boc residual, y la conversión hasta la sal deseada.

También se pueden emplear extracciones con solvente-acuosas o cromatografía, como se estipula en los ejemplos que se encuentran más adelante, para remover o prevenir la formación de precipitados del compuesto protegido por Boc residual.

Actividad Biológica

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales, son inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina. Por ejemplo, son inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina seleccionadas a partir de CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, y CDK9, y en particular de CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5 y CDK9, y de una manera muy particular de CDK1, CDK2, CDK4, y CDK9. También son inhibidores de CDK8 y CDK11.

La piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales también tienen actividad contra la cinasa-3 de sintasa de glicógeno (GSK-3).

Como una consecuencia de su actividad en la modulación o en la inhibición de la cinasa dependiente de ciclina y de la cinasa de sintasa de glicógeno, se espera que la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales sean útiles para proporcionar un medio de detener o recuperar el control de, el ciclo celular en las células que se dividen anormalmente. Por consiguiente, se anticipa que probarán ser útiles

en el tratamiento o en la prevención de los trastornos proliferativos, tales como los cánceres. También se prevé que sean útiles en el tratamiento de condiciones tales como infecciones virales, diabetes mellitus tipo II ó no dependiente de insulina, enfermedades autoinmunes, trauma de la cabeza, embolia, epilepsia, enfermedades neurodegenerativas tales como Alzheimer, enfermedad de neuronas motrices, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, y enfermedad de Pick, por ejemplo enfermedades autoinmunes y enfermedades neurodegenerativas.

Un subgrupo de estados de enfermedad y condiciones en donde se prevé que las sales de la invención serán útiles consiste en infecciones virales, enfermedades autoinmunes, y enfermedades neurodegenerativas.

Las cinasas dependientes de ciclina tienen un papel en la regulación del ciclo celular, apoptosis, transcripción, diferenciación, y función del sistema nervioso central. Por consiguiente, los inhibidores de cinasa dependiente de ciclina podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades en las que exista un trastorno de proliferación, apoptosis, o diferenciación, tal como en el cáncer. En particular, los tumores RB+ve pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina. Los tumores RB-ve también pueden ser sensibles a los inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina.

Los ejemplos de los cánceres que se pueden inhibir incluyen, pero no se limitan a, un carcinoma, por ejemplo un carcinoma de la

vejiga, mama, colon (por ejemplo, carcinomas colo-rectales, tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo adenocarcinoma, cáncer pulmonar de células pequeñas y carcinomas pulmonares que no son de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, por ejemplo carcinoma pancreático exocrino, estómago, cérvix, tiroides, próstata, o de piel, por ejemplo carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoiético del linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, linfoma de células-B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma que no es Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkett; un tumor hematopoiético del linaje mieloide, por ejemplo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplástico, o leucemia promielocítica; cáncer folicular de tiroides; un tumor de origen mesenquimal, por ejemplo fibrosarcoma o habdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo astrocitoma, neuroblastoma, glioma, o schwannoma; melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xeroderma pigmentosum; queratotanthoma; cáncer folicular de tiroides; o sarcoma de Kaposi.

Los cánceres pueden ser cánceres que sean sensibles a la inhibición de cualquiera o más cinasas dependientes de ciclina seleccionadas a partir de CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, y CDK9, por ejemplo, una o más cinasas dependientes de ciclina seleccionadas a partir de CDK1, CDK2, CDK4, y CDK9, por ejemplo CDK1 y/o CDK2.

El que un cáncer particular sea o no uno sensible a la

inhibición por una cinasa dependiente de ciclina puede ser determinado por medio de un ensayo de crecimiento celular, como se estipula en los ejemplos que se encuentran más adelante, o mediante un método como se estipula en la sección encabezada como "Métodos de Diagnóstico".

También se sabe que las cinasas dependientes de ciclina tienen un papel en la apoptosis, proliferación, diferenciación, y transcripción, y por consiguiente, los inhibidores de cinasa dependiente de ciclina también podrían ser útiles en el tratamiento de las siguientes enfermedades diferentes del cáncer: infecciones virales, por ejemplo virus de herpes, virus de varicela, virus Epstein-Barr, virus Sindbis, adenovirus, VIH, HPV, HCV, y HCMV; prevención de desarrollo de SIDA en los individuos infectados por VIH; enfermedades inflamatorias crónicas, por ejemplo lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis autoinmuno-mediada, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, y diabetes mellitus autoinmune; enfermedades cardiovasculares, por ejemplo hipertrofia cardíaca, restenosis, aterosclerosis; trastornos neurodegenerativos, por ejemplo enfermedad de Alzheimer, demencia relacionada con SIDA, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, rinitis pigmentosa, atrofia muscular espina, y degeneración cerebelar; glomerulonefritis; síndromes mielodisplásticos, lesión isquémica asociada con infartos de miocardio, embolia, y lesión por reperfusión, arritmia, aterosclerosis, enfermedades hepáticas inducidas por toxinas o relacionadas con alcohol, enfermedades

hematológicas, por ejemplo anemia crónica y anemia aplástica; enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético, por ejemplo osteoporosis y artritis, rinosinusitis sensible a la aspirina, fibrosis quística, esclerosis múltiple, enfermedades de riñón, y dolor por cáncer.

También se ha descubierto que algunos inhibidores de cinasa dependiente de ciclina se pueden utilizar en combinación con otros agentes contra el cáncer. Por ejemplo, el inhibidor de cinasa dependiente de ciclina flavopiridol se ha utilizado con otros agentes contra el cáncer en una terapia de combinación.

Por consiguiente, en las composiciones farmacéuticas, usos, o métodos de esta invención, para el tratamiento de una enfermedad o condición que comprenda un crecimiento celular anormal, la enfermedad o condición que comprenda el crecimiento celular anormal en una modalidad es un cáncer.

Un grupo de cánceres incluye cánceres de mama humanos (por ejemplo, tumores de mama primarios, cáncer de mama de nodos negativos, adenocarcinomas invasivos del conducto de la mama, cánceres de mama no endometrioides); y linfomas de células de manto. En adición, otros cánceres son los cánceres colo-rectal y endometrial.

Otro subconjunto de cánceres incluyen tumores hematopoiéticos del linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células de manto, y linfoma de células-B (tal como linfoma de células-B grande difuso).

Un cáncer particular es la leucemia linfocítica crónica.

Otro cáncer particular es el linfoma de células de manto.

Otro cáncer particular es el linfoma de células-B grande difuso.

Un subconjunto adicional de cánceres incluye cáncer de mama,
5 cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer
esofágico, cáncer escamoso, y carcinomas pulmonares que no son
de células pequeñas.

La actividad de las sales de adición de ácido de la invención
como inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina y de la
10 cinasa-3 de sintasa de glicógeno, se puede medir utilizando los
ensayos estipulados en los ejemplos que se encuentran más
adelante, y se puede definir el nivel de actividad exhibido en
términos del valor IC_{50} .

Por consiguiente, por ejemplo, se prevé que las sales de
15 adición de ácido de la invención serán útiles para aliviar o reducir la
incidencia de cáncer.

La invención también proporciona, entre otras cosas:

- Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del
ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico,
20 diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en la profilaxis o
el tratamiento de un estado de enfermedad o condición mediada por
una cinasa dependiente de ciclina o por una cinasa-3 de sintasa de
glicógeno.

- Una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del
25 ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico,

diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en la inhibición del crecimiento tumoral en un mamífero.

- Una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico,

5 diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en la inhibición del crecimiento de células tumorales (por ejemplo, en un mamífero).

- Un método para la profilaxis o el tratamiento de un estado de enfermedad o condición mediada por una cinasa dependiente de ciclina o cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo método comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

- Un método para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), cuyo método comprende administrar al mamífero (por ejemplo, un ser humano), una cantidad inhibidora del crecimiento tumoral efectiva de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

- Un método para inhibir el crecimiento de células tumorales (por ejemplo, las células tumorales presentes en un mamífero, tal como un ser humano), cuyo método comprende poner en contacto las células tumorales con una cantidad inhibidora del crecimiento de células tumorales efectiva de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-

amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

• Un método para aliviar o reducir la incidencia de un estado de enfermedad o condición mediada por una cinasa dependiente de ciclina o cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo
5 método comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

• Un método para el tratamiento de una enfermedad o
10 condición que comprende o se presenta a partir de un crecimiento celular anormal en un mamífero, cuyo método comprende administrar al mamífero una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, en una cantidad efectiva para
15 inhibir el crecimiento celular anormal.

• Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento celular anormal en un mamífero, cuyo método comprende
20 administrar al mamífero una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento celular anormal.

• Un método para el tratamiento de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento
25 celular anormal en un mamífero, comprendiendo el método

administrar al mamífero una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, en una cantidad efectiva para inhibir la actividad de una cinasa cdk (tal como cdk1 ó cdk2) o de cinasa-3 de sintasa de glicógeno.

- Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento celular anormal en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, en una cantidad efectiva para inhibir la actividad de una cinasa cdk (tal como cdk1 ó cdk2) o de cinasa-3 de sintasa de glicógeno.

- Un método para inhibir una cinasa dependiente de ciclina o una cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo método comprende poner en contacto la cinasa con una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

- Un método para modular un proceso celular (por ejemplo, la división celular), mediante la inhibición de la actividad de una cinasa dependiente de ciclina o de una cinasa-3 de sintasa de glicógeno, utilizando una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

- Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del

ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en la profilaxis o el tratamiento de un estado de enfermedad, como se describe en la presente.

5 • El uso de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para la fabricación de un medicamento, en donde el medicamento es para cualquiera o más de los usos definidos en la presente.

10 • Una composición farmacéutica, la cual comprende una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 • Una composición farmacéutica para administrarse en una forma de solución acuosa, comprendiendo la composición farmacéutica una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, teniendo la sal una solubilidad en agua mayor a 15 miligramos/mililitro, típicamente mayor a 20
20 miligramos/mililitro, y de preferencia mayor a 25 miligramos/ mililitro, y de una manera muy preferible, mayor a 30 miligramos/mililitro.

 • Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en medicina.

25 • Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del

ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para cualesquiera de los usos y métodos estipulados anteriormente, y como se describen en cualquier otra parte de la presente.

- 5 • Un método para el diagnóstico y el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediada por una cinasa dependiente de ciclina, cuyo método comprende: (i) rastrear a un paciente para determinar si una enfermedad o condición de la que esté o pueda estar sufriendo el paciente, es una que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad
10 contra las cinasas dependientes de ciclina; y (ii) en donde se indique que la enfermedad o condición de la que está sufriendo el paciente es así susceptible, administrar posteriormente al paciente una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-
15 benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

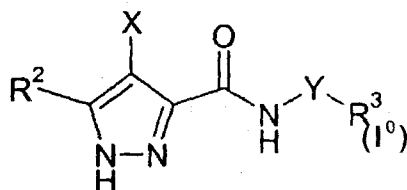
- El uso de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para la fabricación
20 de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de un estado o condición de enfermedad en un paciente que se haya rastreado y se haya determinado por sufrir de, o por estar en riesgo de sufrir de, una enfermedad o condición que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra la cinasa dependiente de
25 ciclina.

Las sales de adición de ácido en los aspectos anteriores de la invención pueden ser, por ejemplo, cualesquiera de las sales descritas en la presente, y en particular las sales de metansulfonato y acetato, y mezclas de las mismas, y más preferiblemente la sal de metan-sulfonato.

Tratamiento de linfoma de células-B, leucemia linfocítica crónica, y linfoma de células-B grande y difuso.

La invención también proporciona nuevos usos (es decir, el uso en el tratamiento de linfoma de células-B, leucemia linfocítica crónica, y linfoma de células-B grande y difuso) de los compuestos dados a conocer en nuestra solicitud anterior PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), cuyo contenido se incorpora a la presente como referencia.

De una manera más particular, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I⁰):



y los sub-grupos, modalidades, y ejemplos del mismo, como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), y en donde R², R³, X, e Y son como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de linfoma de células-B, leucemia linfocítica crónica, o

linfoma de células-B grande y difuso.

También se proporcionan métodos de tratamiento de linfoma de células-B, linfoma de células-B grande y difuso, y leucemia linfocítica crónica, mediante la administración a un paciente que necesite dicho tratamiento, de un compuesto de la fórmula (I⁰) como se define en la presente, y en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256).

Los compuestos particulares de la fórmula (I⁰) son los definidos en la fórmula (Ib) en la página 17, de la fórmula (II) en la página 66, de la fórmula (IV) en la página 72, de la fórmula (IVa) en la página 74, de la fórmula (Va) en la página 76, de la fórmula (Vb) en la página 77, de la fórmula (VIa) en la página 78, y de la fórmula (VIb) en la página 79 de la Publicación Internacional Número WO 2005/012256, los compuestos enlistados en la página 79, y los compuestos ejemplificados en la sección de Ejemplos de la Publicación Internacional Número WO 2005/12256.

Un compuesto preferido de la fórmula (I⁰) es la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales (por ejemplo, las sales de adición de ácido), solvatos, tautómeros, o N-óxidos.

En una modalidad, la sal puede ser una sal de clorhidrato. La sal de clorhidrato se puede preparar como se describe en el Ejemplo 150 o en el Ejemplo 237 de nuestra solicitud anterior Número PCT/GB2004/003179, cuyo contenido que sea relevante para la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-

62

pirazol-3-carboxílico se incorpora a la presente como referencia. El Ejemplo 237 de la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256) se incluye en esta solicitud como el Ejemplo 11.

5 Por consiguiente, de acuerdo con este aspecto de la invención, se proporciona:

• Un compuesto de la fórmula (I^0), y los sub-grupos, modalidades, y ejemplos del mismo, como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 10 2005/012256), y en donde R^2 , R^3 , X, e Y son como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/ 003179 (WO 2005/012256), y las sales de adición de ácido del mismo (por ejemplo, una sal de clorhidrato), para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B.

15 • Un compuesto de la fórmula (I^0), y los sub-grupos, modalidades, y ejemplos del mismo, como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), y en donde R^2 , R^3 , X, e Y son como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/ 003179, y las sales 20 de adición de ácido del mismo (por ejemplo, una sal de clorhidrato), para utilizarse en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica.

• Un compuesto de la fórmula (I^0), y los sub-grupos, modalidades, y ejemplos del mismo, como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179 (WO 25 2005/012256), y en donde R^2 , R^3 , X, e Y son como se definen en la

82

Publicación Internacional Número PCT/GB2004/ 003179, y las sales de adición de ácido del mismo (por ejemplo, una sal de clorhidrato), para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B grande y difuso.

5 En un aspecto adicional, la invención proporciona la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal (por ejemplo, una sal de adición de ácido), solvato, tautómero, o N-óxido de la misma, para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B.

10 La invención proporciona además la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal (por ejemplo, una sal de adición de ácido), solvato, tautómero, o N-óxido de la misma, para utilizarse en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica.

15 La invención proporciona además la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal (por ejemplo, una sal de adición de ácido), solvato, tautómero, o N-óxido de la misma, para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B grande y difuso.

20 En el tratamiento de linfoma de células-B, linfoma de células-B grande y difuso, y leucemia linfocítica crónica, se puede emplear la base libre de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, o más preferiblemente, se puede utilizar una sal de adición de ácido. La sal de adición de ácido puede
25 ser la sal de clorhidrato dada a conocer en nuestra solicitud anterior

Número PCT/GB2004/003179 (WO 2005/012256), o puede ser una de las sales dadas a conocer en la presente, por ejemplo las sales con los ácidos metansulfónico y acético.

También se proporcionan métodos para el tratamiento de linfoma de células-B, linfoma de células-B grande y difuso, y leucemia linfocítica crónica, mediante la administración a un paciente que necesite dicho tratamiento, de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, o una sal de adición de ácido de la misma.

Formulaciones Farmacéuticas

Aunque es posible que se administre solo un compuesto (por ejemplo, un compuesto de la fórmula I^o ó piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de adición de ácido de la misma, tal como la sal de mesilato), como se define en la presente, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación), que comprenda al compuesto o la sal del mismo, junto con uno o más vehículos, adyuvantes, excipientes, diluyentes, rellenos, reguladores del pH, estabilizantes, conservadores, lubricantes, u otros materiales bien conocidos por los expertos en este campo. Las composiciones también pueden incluir otros agentes terapéuticos o profilácticos; por ejemplo, agentes que reduzcan o alivien algunos de los efectos secundarios asociados con la quimioterapia. Los ejemplos particulares de estos agentes incluyen agentes anti-eméticos y agentes que prevengan o reduzcan la duración de la neutropenia

asociada con quimioterapia, y que prevengan las complicaciones que se presenten por los niveles reducidos de glóbulos rojos o glóbulos blancos sanguíneos, por ejemplo eritropoietina (EPO), factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos (GM-CSF), y
5 factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF).

Por consiguiente, la presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas, como se definen anteriormente, y métodos para hacer una composición farmacéutica, los cuales comprenden mezclar una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-
10 dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (en particular la sal de mesilato) como se define en la presente, junto con uno o más vehículos, excipientes, reguladores del pH, adyuvantes, estabilizantes, u otros materiales, como se describen en la presente.

El término "farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la
15 presente, pertenece a los compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que, dentro del alcance de un juicio médico importante, sean adecuados para utilizarse en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, un ser humano) sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o
20 complicación, de una manera conmensurada con una proporción razonable de beneficio/riesgo. Cada vehículo, excipiente, etcétera, también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier
25 forma adecuada para administración oral, parenteral, tópica,

intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intra-vaginal, o transdérmica. Cuando se pretenden las composiciones para administración parenteral, se pueden formular para administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, o para su suministro
5 directo hacia un órgano o tejido objetivo mediante inyección, infusión, u otro medio de suministro. El suministro puede ser mediante inyección de bolo, infusión de corto plazo, o infusión de plazo más largo, y puede ser por medio de suministro pasivo o a través de la utilización de una bomba de infusión adecuada.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas, las cuales pueden contener antioxidantes, reguladores del pH, bacteriostáticos, co-solventes, mezclas de solventes orgánicos, agentes de formación de complejos
15 de ciclodextrina, agentes emulsionantes (para formar y estabilizar las formulaciones en emulsión), componentes de liposomas para formar liposomas, polímeros gelificables para formar geles poliméricos, protectores de liofilización, y combinaciones de agentes para, entre otras cosas, estabilizar al ingrediente activo en una forma soluble, y
20 hacer que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor pretendido. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral también pueden tomar la forma de suspensiones estériles acuosas y no acuosas, las cuales pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes (R. G. Strickly, Solubilizing
25 Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical

Research, Vol. 21(2) 2004, páginas 201-230).

Una molécula de fármaco que sea ionizable, se puede solubilizar hasta la concentración deseada mediante ajuste del pH, si la pK_a del fármaco está suficientemente lejos del valor de pH de la formulación. El intervalo aceptable es un pH de 2 a 12 para administración intravenosa e intramuscular, pero, para la administración subcutánea, el intervalo aceptable es un pH de 2.7 a 9.0. El pH de la solución se controla ya sea mediante la forma de sal del fármaco, ácidos/bases fuertes, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, o mediante soluciones de reguladores que incluyen, pero no se limitan a, soluciones reguladores formadas de glicina, citrato, acetato, maleato, succinato, histidina, fosfato, tris-(hidroxi-metil)-amino-metano (TRIS), o carbonato.

La combinación de una solución acuosa y un solvente orgánico soluble en agua/tensoactivo (es decir, un co-solvente), con frecuencia se utiliza en formulaciones inyectables. Los solventes orgánicos solubles en agua y los tensoactivos utilizados en las formulaciones inyectables incluyen, pero no se limitan a, propilenglicol, etanol, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, glicerina, dimetil-acetamida (DMA), N-metil-2-pirrolidona (NMP; Pharmasolve), sulfóxido de dimetilo (DMSO), Solutol HS 15, Cremophor EL, Cremophor RH 60, y polisorbato 80. Estas formulaciones normalmente, pero no siempre, se pueden diluir antes de su inyección.

El propilenglicol, PEG 300, etanol, Cremophor EL, Cremophor

RH 60, y el polisorbato 80, son los solventes miscibles en agua y tensoactivos enteramente orgánicos utilizados en las formulaciones inyectables comercialmente disponibles, y se pueden utilizar en combinaciones de unos con otros. Las formulaciones orgánicas resultantes normalmente se diluyen cuando menos dos veces antes del bolo IV o de la infusión IV.

De una manera alternativa, se puede alcanzar una mayor solubilidad en agua a través de formación de complejos moleculares con ciclodextrinas.

Los liposomas son vesículas esféricas cerradas compuestas de membranas de bicapa de lípido externas y un núcleo acuoso interno, y con un diámetro total de <100 micras. Dependiendo del nivel de hidrofobicidad, los fármacos moderadamente hidrofóbicos se pueden solubilizar mediante los liposomas si el fármaco llega a encapsularse o a intercalarse adentro del liposoma. Los fármacos hidrofóbicos también se pueden solubilizar mediante los liposomas si la molécula de fármaco llega a ser una parte integral de la membrana de bicapa de lípido, y en este caso, el fármaco hidrofóbico se disuelve en la porción de lípido de la bicapa de lípido. Una formulación de liposoma típica contiene agua con fosfolípido a -5-20 miligramos/mililitro, un isotonicificador, un regulador de pH de 5-8, y opcionalmente colesterol.

Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo en ampollitas y frascos sellados, y se puede almacenar en una condición secada por

congelación (liofilizada), requiriendo solamente de la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de utilizarse.

La formulación farmacéutica se puede preparar mediante la
5 liofilización de un compuesto de la Fórmula (I⁰) o (I) o una sal del mismo como se define en la presente. La liofilización se refiere al procedimiento de secado por congelación de una composición. Por consiguiente, el secado por congelación y la liofilización se utilizan en la presente como sinónimos. Un proceso típico es solubilizar el
10 compuesto, y la formulación resultante se aclara, se filtra estéril, y se transfiere asépticamente a los recipientes apropiados para la liofilización (por ejemplo, frascos). En el caso de los frascos, se tapan parcialmente con lio-taponés. La formulación se puede enfriar hasta la congelación, y se puede someter a liofilización bajo
15 condiciones convencionales, y luego se tapa herméticamente, formando una formulación liofílica seca estable. La composición típicamente tendrá un contenido de agua residual bajo, por ejemplo menor del 5 por ciento, por ejemplo menor del 1 por ciento en peso, basándose en el peso del liofílo.

20 La formulación de liofilización puede contener otros excipientes, por ejemplo, agentes espesantes, agentes dispersantes, reguladores del pH, antioxidantes, conservadores, y ajustadores de tonicidad. Los reguladores del pH típicos incluyen fosfato, acetato, citrato, y glicina. Los ejemplos de los antioxidantes incluyen ácido
25 ascórbico, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, monotioglicerol,

tiourea, hidroxí-tolueno butilado, hidroxianisol butilado, y sales de ácido etilendiaminatetra-acético. Los conservadores pueden incluir ácido benzoico y sus sales, ácido sórbico y sus sales, alquil-ésteres de ácido *para*-hidroxibenzoico, fenol, cloro-butanil, alcohol bencílico, 5 timerosal, cloruro de benzalconio, y cloruro de cetil-piridinio. Los reguladores mencionados anteriormente, así como dextrosa y cloruro de sodio, se pueden utilizar para el ajuste de la tonicidad, si es necesario.

En general se utilizan agentes de volumen en la tecnología de 10 liofilización para facilitar el proceso y/o para proporcionar volumen y/o para la integridad mecánica de la torta liofilizada. Un agente de volumen significa un diluyente en partículas sólidas libremente soluble en agua que, cuando se co-liofiliza con el compuesto o la sal del mismo, proporciona una torta liofilizada físicamente estable, un 15 proceso de secado por congelación más óptimo, y una reconstitución rápida y completa. El agente de volumen también se puede utilizar para hacer que la solución sea isotónica.

El agente de volumen soluble en agua puede ser cualquiera de los materiales sólidos inertes farmacéuticamente aceptables 20 típicamente utilizados para la liofilización. Estos agentes de volumen incluyen, por ejemplo, azúcares, tales como glucosa, maltosa, sacarosa, y lactosa; polialcoholes, tales como sorbitol o manitol; aminoácidos, tales como glicina; polímeros, tales como polivinil-pirrolidina; y polisacáridos, tales como dextrano.

25 La proporción del peso del agente de volumen al peso el

compuesto activo normalmente está dentro del intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 5, por ejemplo de aproximadamente 1 a aproximadamente 3, por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 1 a 2.

5 De una manera alternativa, se pueden proporcionar en una forma de solución, la cual puede ser concentrada y sellada en un frasco adecuado. La esterilización de las formas de dosificación puede ser por medio de filtración, o pasando por autoclave los frascos y su contenido en etapas apropiadas del proceso de formulación. La formulación suministrada puede requerir de una
10 dilución o preparación adicional antes del suministro, por ejemplo, una dilución en los paquetes de infusión estériles adecuados.

Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos, y tabletas estériles.

15 En una modalidad preferida de la invención, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración intravenosa, por ejemplo mediante inyección o infusión.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención para inyección parenteral también pueden comprender soluciones,
20 dispersiones, suspensiones, o emulsiones acuosas o no acuosas, estériles, farmacéuticamente aceptables, así como polvos estériles para reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usarse. Los ejemplos de los vehículos, diluyentes, solventes, o portadores acuosos y no acuosos adecuados incluyen
25 agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol,

92

polietilenglicol, y similares), carboxi-metil-celulosa y mezclas adecuadas de la misma, aceites vegetales (tales como aceite de olivo), y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener una fluidez apropiada, por ejemplo, mediante la
5 utilización de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de las dispersiones, y mediante la utilización de tensoactivos.

Las composiciones de la presente invención también pueden contener adyuvantes, tales como conservadores, agentes
10 humectantes, agentes emulsionantes, y agentes de dispersión. Se puede asegurar la prevención de la acción de los microorganismo mediante la inclusión de diferentes agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes
15 isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede provocar mediante la inclusión de agentes que demoren la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Si un compuesto no es estable en un medio acuoso, o tiene
20 una baja solubilidad en un medio acuoso, se puede formular como un concentrado en solventes orgánicos. Entonces el concentrado se puede diluir hasta una concentración más baja en un sistema acuoso, y puede ser suficientemente estable durante el corto período de tiempo durante la dosificación. Por consiguiente, en otro aspecto,
25 se proporciona una composición farmacéutica que comprende una

92

solución no acuosa compuesta enteramente de uno o más solventes orgánicos, los cuales se pueden dosificar como estén, o más comúnmente se pueden diluir con un excipiente adecuado IV (suero, dextrosa; regulado o no regulado) antes de su administración

5 (Solubilizing excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, 21(2), 2004, páginas 201-230). Los ejemplos de los solventes y tensoactivos son propilenglicol, PEG300, PEG400, etanol, dimetil-acetamida (DMA), N-metil-2-pirrolidona (NMP, Pharmasolve), glicerina, Cremophor EL, Cremophor RH60, y

10 polisorbato. las soluciones no acuosas particulares se componen del 70 al 80 por ciento de propilenglicol, y del 20 al 30 por ciento de etanol. Una solución no acuosa particular se compone del 70 por ciento de propilenglicol, y el 30 por ciento de etanol. Otra es del 80 por ciento de propilenglicol, y el 20 por ciento de etanol.

15 Normalmente, estos solventes se utilizan en combinación, y usualmente se diluyen cuando menos dos veces antes del bolo IV ó de la infusión IV. Las cantidades típicas para las formulaciones del bolo IV son aproximadamente el 50 por ciento para glicerina, propilenglicol, PEG300, PEG400, y aproximadamente el 20 por ciento

20 para etanol. Las cantidades típicas para las formulaciones de infusión IV son aproximadamente el 15 por ciento para glicerina, el 3 por ciento para dimetil-acetamida, y aproximadamente el 10 por ciento para propilenglicol, PEG300, PEG400, y etanol.

En una modalidad preferida de la invención, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración

25

intravenosa, por ejemplo mediante inyección o infusión. Para la administración intravenosa, la solución se puede dosificar como esté, o se puede inyectar en una bolsa para infusión (que contenga un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como suero al 0.9 por ciento o dextrosa al 5 por ciento), antes de su administración.

En otra modalidad preferida, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para su administración subcutánea (s.c.).

Las formas de dosificación farmacéutica adecuadas para administración oral incluyen tabletas, cápsulas, caplets, píldoras, grageas, jarabes, soluciones, polvos, gránulos, elíxires y suspensiones, tabletas sublinguales, obleas o parches, y parches bucales.

Las composiciones farmacéuticas que contengan un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una sal de adición de ácido del mismo, se pueden formular de acuerdo con las técnicas conocidas, ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EUA.

Los compuestos de la Fórmula (I⁰) y las sub-fórmulas de los mismos, como se definen en la Publicación Internacional Número WO 2005/012256, se pueden formular como se describe en la misma y como se describe en esta solicitud.

Por consiguiente, las composiciones de tabletas pueden contener una dosificación unitaria del compuesto activo, junto con un diluyente o vehículo inerte, tal como un azúcar o un alcohol de azúcar, por ejemplo lactosa, sacarosa, sorbitol, o manitol; y/o un

diluyente no derivado de azúcar, tal como carbonato de sodio, fosfato de calcio, carbonato de calcio, o una celulosa o derivado de la misma, tal como metil-celulosa, etil-celulosa, hidroxipropil-metil-celulosa, y almidones, tales como almidón de maíz. Las tabletas
5 también pueden contener ingredientes convencionales, tales como agentes aglutinantes y de granulación, tales como polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo, polímeros reticulados hinchables, tales como carboxi-metil-celulosa reticulada), agentes lubricantes (por ejemplo, estearatos), conservadores (por ejemplo,
10 parabenos), antioxidantes (por ejemplo, BHT), agentes reguladores del pH (por ejemplo, reguladores de fosfato o citrato), y agentes efervescentes, tales como mezclas de citrato/bicarbonato. Estos excipientes son bien conocidos y no necesitan discutirse con detalle en la presente.

15 Las formulaciones de cápsulas pueden ser de la variedad de gelatina dura o de gelatina blanda, y pueden contener al componente activo en una forma sólida, semi-sólida, o líquida. Las cápsulas de gelatina se pueden formar de gelatina animal, o de sus equivalentes sintéticos o derivados de plantas.

20 Las formas de dosificación sólida (por ejemplo, tabletas, cápsulas, etcétera) pueden estar recubiertas o no recubiertas, pero típicamente tienen un recubrimiento, por ejemplo un recubrimiento de película protectora (por ejemplo, una cera o barniz), o un recubrimiento de control de liberación. El recubrimiento (por ejemplo,
25 un polímero de tipo Eudragit^{MR}) se puede diseñar para liberar el

componente activo en una localización deseada dentro del tracto gastrointestinal. Por consiguiente, el recubrimiento se puede seleccionar de tal manera que se degrade bajo ciertas condiciones de pH adentro del tracto gastrointestinal, liberando de esta manera selectivamente el compuesto en el estómago o en el íleo o en el duodeno.

En lugar de, o en adición a, un recubrimiento, el fármaco se puede presentar en una matriz sólida que comprenda un agente de control de liberación, por ejemplo un agente de demora de liberación que se pueda adaptar para liberar selectivamente el compuesto bajo condiciones de actividad o alcalinidad variables en el tracto gastrointestinal. De una manera alternativa, el material de matriz o el recubrimiento retardador de liberación, puede tomar la forma de un polímero erosionable (por ejemplo, un polímero de anhídrido maleico), el cual se erosione de una manera sustancialmente continua a medida que pase la forma de dosificación a través del tracto gastrointestinal. Como una alternativa adicional, el compuesto activo se puede formular en un sistema de suministro que proporcione un control osmótico de la liberación del compuesto. Las formulaciones de liberación osmótica y otras formulaciones de liberación demorada o de liberación sostenida se pueden preparar de acuerdo con los métodos bien conocidos por los expertos en la materia.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar a un paciente en "paquetes para el paciente" que contengan un curso

entero de tratamiento en un solo paquete, usualmente un paquete de ampolla. Los paquetes para el paciente tienen una ventaja sobre las prescripciones tradicionales, en donde un farmacéutico divide el suministro de un paciente de un producto farmacéutico a partir de un
5 suministro a granel, en que el paciente siempre tiene acceso al inserto del paquete contenido en el paquete para el paciente, el cual normalmente falta en las prescripciones para los pacientes. La inclusión de un inserto en el paquete ha demostrado mejorar el cumplimiento del paciente con las instrucciones del médico.

10 Las composiciones para uso tópico incluyen ungüentos, cremas, rocíos, parches, geles, gotas líquidas, e insertos (por ejemplo, insertos intraoculares). Estas composiciones se pueden formular de acuerdo con los métodos conocidos.

15 Las composiciones para administración parenteral normalmente se presentan como soluciones acuosas u oleosas estériles, o como suspensiones finas, o se pueden proporcionar en una forma de polvo estéril finamente dividido para formarse extemporáneamente con agua estéril para inyección.

20 Los ejemplos de las formulaciones para administración rectal o intra-vaginal incluyen pesarios y supositorios, los cuales, por ejemplo, se pueden formar a partir de un material moldeable configurado o ceroso que contenga al compuesto activo.

25 Las composiciones para administración mediante inhalación pueden tomar la forma de composiciones en polvo inhalables o rocíos líquidos o en polvo, y se pueden administrar en una forma

estándar utilizando dispositivos de inhaladores de polvo o dispositivos de dosificación de aerosol. Estos dispositivos son bien conocidos. Para la administración mediante inhalación, las formulaciones en polvo normalmente comprenden al compuesto activo junto con un diluyente en polvo sólido inerte, tal como lactosa.

El compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó la sal de adición de ácido del mismo, generalmente se presentará en una forma de dosificación unitaria, y como tal, típicamente contendrá suficiente compuesto para proporcionar un nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación puede contener desde 1 nanogramo hasta 2 gramos de ingrediente activo, por ejemplo desde 1 nanogramo hasta 2 miligramos de ingrediente activo. Dentro de este intervalo, los sub-intervalos particulares del compuesto son de 0.1 miligramos 2 gramos de ingrediente activo (más usualmente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo de 50 miligramos a 500 miligramos), o de 1 microgramo a 20 miligramos (por ejemplo, de 1 microgramo a 10 miligramos, por ejemplo de 0.1 miligramos a 2 miligramos de ingrediente activo).

El compuesto activo se administrará a un paciente que lo necesite (por ejemplo, un paciente humano o animal), en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.

Métodos de Tratamiento

Se prevé que la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales de adición de ácido, en particular las sales de mesilato, acetato y clorhidrato (y

más particularmente las sales de mesilato y acetato, y las mezclas de las mismas), o los compuestos de la fórmula (I⁰) como se definen en la presente, serán útiles en la profilaxis o en el tratamiento de un rango de estados de enfermedad o condiciones mediadas por las cinasas dependientes de ciclina y la cinasa-3 de sintasa de glicógeno. Los ejemplos de estos estados de enfermedad y condiciones se estipulan anteriormente.

El compuesto y sus sales se administran en general a un sujeto que necesite dicha administración, por ejemplo un paciente humano o animal, de preferencia un ser humano.

El compuesto y sus sales normalmente se administrarán en cantidades que sean terapéuticamente o profilácticamente útiles, y que en general sean no tóxicos. Sin embargo, en ciertas situaciones (por ejemplo, en el caso de las enfermedades amenazantes de la vida), los beneficios de administrar el compuesto o sus sales pueden superar a los inconvenientes de cualesquiera efectos tóxicos o efectos secundarios, en cuyo caso, se puede considerar deseable administrar el compuesto o la sal del mismo en cantidades que estén asociadas con un grado de toxicidad.

El compuesto o una sal del mismo, como se definen en la presente, se pueden administrar durante un plazo prolongado para mantener los efectos terapéuticos benéficos, o se pueden administrar solamente durante un período corto. De una manera alternativa, se pueden administrar de una manera pulsátil o continua.

Una dosis diaria típica del compuesto o una sal del mismo

como se define en la presente, puede estar en el intervalo de 100 picogramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, más típicamente de 5 nanogramos a 25 miligramos por kilogramo de peso corporal, y más usualmente de 10 nanogramos a 15 miligramos por kilogramo (por ejemplo, de 10 nanogramos a 10 miligramos, y más típicamente de 1 microgramo por kilogramo a 20 miligramos por kilogramo, por ejemplo de 1 microgramo a 10 miligramos por kilogramo) por kilogramo de peso corporal, aunque se pueden administrar dosis más altas o más bajas cuando se requieran. El compuesto o una sal del mismo se puede administrar sobre una base diaria, o sobre una base repetida cada 2, ó 3, ó 4, ó 5, ó 6, ó 7, ó 10, ó 14, ó 21, ó 28 días, por ejemplo.

Un ejemplo de una dosificación para una persona de 60 kilogramos comprende administrar un compuesto de la Fórmula (I) como se define en la presente, por ejemplo la base libre del compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, en una dosificación inicial de 4.5 a 10.8 miligramos/60 kilogramos/ día (equivalente a 75-180 microgramos/kilogramo/día), y subsecuentemente en una dosis eficaz de 44 a 97 miligramos/60 kilogramos/día (equivalente a de 0.7 a 1.6 miligramos/kilogramo/día), o en una dosis eficaz de 72 a 274 miligramos/60 kilogramos/día (equivalente a de 1.2 a 4.6 miligramos/kilogramo/día), aunque se pueden administrar dosis más altas o mas bajas cuando se requieran. La dosis en miligramos/kilogramo se escalaría prorrateada para cualquier peso

corporal dado.

Un ejemplo de una dosificación para la sal de mesilato es, en una dosificación inicial de 5.6 a 13.5 mili-gramos/60 kilogramos/día (equivalentes a 93 a 225 micro-gramos/kilogramo/día/persona), y
5 subsecuentemente una dosis eficaz de 55 a 122 miligramos/60 kilogramos/día (equivalentes a 0.9 a 2.0 miligramos/kilogramo/día/persona), o una dosis eficaz de 90 a 345 miligramos/60 kilogramos/día (equivalentes a 1.5 a 5.8 miligramos/kilogramo/día/persona), aunque se pueden administrar
10 dosis más altas o más bajas cuando se requieran. Finalmente, la cantidad de compuesto administrado y el tipo de composición utilizado, serán conmensurados con la naturaleza de la enfermedad o condición fisiológica que se esté tratando, y estará a la discreción del médico.

15 En un programa de dosificación particular, a un paciente se le dará una infusión del compuesto o una sal del mismo, durante períodos de 1 hora diariamente por hasta 10 días, en particular hasta 5 días durante una semana, y se repetirá el tratamiento a un intervalo deseado, tal como de 2 a 4 semanas, en particular cada 3
20 semanas.

De una manera más particular, a un paciente se le puede dar una infusión del compuesto o una sal del mismo durante períodos de 1 hora diariamente por 5 días, y se repite el tratamiento cada tres semanas.

25 En otro programa de dosificación particular, a un paciente se le

da una infusión durante 30 minutos a 1 hora, seguida por infusiones de mantenimiento de duración variable, por ejemplo de 1 a 5 horas, por ejemplo 3 horas.

5 En un programa de dosificación particular adicional, a un paciente se le da una infusión continua durante un período de 12 horas a 5 días, y en particular una infusión continua de 24 horas a 72 horas.

10 En otro programa de dosificación, el cual se puede emplear, por ejemplo, en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica, a un paciente se le da una infusión de 2 a 6 horas (más típicamente de 3 a 5 horas), y se repite a intervalos de 6 a 8 días durante 3, 4 ó 5 semanas en 6. En una modalidad preferida de este programa, a un paciente se le da una infusión de 4 horas, una vez a la semana, durante 4 semanas en 6.

15 Sin embargo, finalmente, la cantidad del compuesto administrado y el tipo de composición utilizada serán conmensurados con la naturaleza de la enfermedad o condición fisiológica que se esté tratando, y estarán a la discreción del médico.

20 Los compuestos o sus sales se pueden administrar como el único agente terapéutico, o se pueden administrar en una terapia de combinación con uno o más compuestos diferentes para el tratamiento de un estado de enfermedad particular, por ejemplo una enfermedad neoplásica, tal como un cáncer, como se define anteriormente en la presente. Los ejemplos de otros agentes terapéuticos o terapias que se pueden administrar o utilizar junto (ya

25

sea de una manera concurrente o a diferentes intervalos de tiempo) con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de topoisomerasa, agentes alquilantes, anti-metabolitos, enlazantes de ADN, inhibidores de microtúbulos (agentes de dirección a la tubulina), anticuerpos monoclonales, e inhibidores de transducción de señales. siendo los ejemplos particulares la cisplatina, ciclofosfamida, doxorrubicina, irinotecano, fludarabina, 5FU, taxanos, mitomicina C, y radioterapia.

El compuesto o sus sales, y otro agente terapéutico con el que se administren en una terapia de combinación, se pueden dar en programas de dosis individualmente variables y por diferentes vías. Por consiguiente, por ejemplo, las formas de sal de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (por ejemplo, las sales de mesilato y acetato, y las mezclas de las mismas), se pueden administrar como soluciones por la vía parenteral, mientras que se puede administrar oralmente otro agente terapéutico.

Cuando el compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó la sal de adición de ácido del mismo, se administra en una terapia de combinación con 1, 2, 3, 4, ó más agentes terapéuticos diferentes (de preferencia 1 ó 2, más preferiblemente 1), los compuestos se pueden administrar de una manera simultánea o en secuencia. Cuando se administran en secuencia, se pueden administrar a intervalos estrechamente espaciados (por ejemplo, durante un período de 5 a 10 minutos), o a intervalos más largos (por ejemplo, con 1, 2, 3, 4, ó más horas de

separación, o inclusive períodos más largos de separación cuando se requiera), siendo el régimen de dosificación preciso conmensurado con las propiedades de los agentes terapéuticos.

Los compuestos de la fórmula (I⁰) ó (I) o la sal de adición de ácido de los mismos, también se pueden administrar en conjunto con tratamientos no quimioterapéuticos, tales como radioterapia, terapia fotodinámica, terapia genética; cirugía, y dietas controladas.

Para utilizarse en la terapia de combinación con otro agente quimioterapéutico, el compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó la sal de adición de ácido del mismo, y 1, 2, 3, 4, ó más agentes terapéuticos diferentes, por ejemplo, se pueden formular juntos en una forma de dosificación que contenga 2, 3, 4, ó más agentes terapéuticos. En una alternativa, los agentes terapéuticos individuales se pueden formular por separado, y se pueden presentar juntos en la forma de un estuche terapéutico, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Una persona experta en la materia sabría, a través de su conocimiento general común, los regímenes de dosificación y las terapias de combinación a utilizar.

Métodos de Diagnóstico

Antes de la administración de un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una sal de adición de ácido del mismo, se puede rastrear a un paciente para determinar si una enfermedad o condición de la que esté o pueda estar sufriendo el paciente, es una que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad

contra las cinasas dependientes de ciclina.

Por ejemplo, se puede analizar una muestra biológica tomada de un paciente, para determinar si una condición o enfermedad, tal como cáncer, que esté o pueda estar sufriendo el paciente, es una que se caracterice por una anomalía genética o una expresión de proteína anormal que conduzca a una sobre-activación de las cinasas dependientes de ciclina, o a la sensibilización de una senda para la actividad normal de la cinasa dependiente de ciclina. Los ejemplos de estas anomalías que dan como resultado la activación o sensibilización de la señal de CDK2 incluyen el aumento de ciclina E (Harvell RM, Mull BB, Porter DC, Keyomarsi K.; *J. Biol. Chem.* 2004 26 de marzo; 279(13):12695-705), o la pérdida de p21 ó p27, o la presencia de variantes de CDC4 (Rajagolapan H, Jallepalli PV, Rago C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C.; *Nature*. 4 de marzo de 2004; 428(6978):77-81). Los tumores con mutantes de CDC4 ó en aumento, en particular con sobre-expresión, de ciclina E, o pérdida de p21 ó p27, pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina. El término "aumento", como se utiliza en la presente, incluye la expresión elevada o sobre-expresión, incluyendo la amplificación genética (es decir, múltiples copias de genes) y la expresión incrementada mediante un efecto de transcripción, e hiperactividad y activación, incluyendo activación por mutaciones.

Por consiguiente, el paciente se puede someter a una prueba de diagnóstico para detectar un marcador característico del aumento

de ciclina E, o de la pérdida de p21 ó p27, o de la presencia de variantes de CDC4. El término "diagnóstico" incluye el rastreo. Mediante marcador, incluimos a los marcadores genéticos incluyendo, por ejemplo, la medición de la composición del ADN para
5 identificar las mutaciones de CD4. El término "marcador" también incluye a los marcadores que son característicos del aumento de ciclina E, incluyendo la actividad enzimática, los niveles de enzimas, el estado enzimático (por ejemplo, fosforilado o no), y los niveles de ARNm de las proteínas anteriormente mencionadas. Los tumores con
10 aumento de ciclina E, o pérdida de p21 ó p27, pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina. Los tumores se pueden rastrear preferencialmente para el aumento de ciclina E, o la pérdida de p21 ó p27, antes del tratamiento. Por consiguiente, el paciente se puede someter a una
15 prueba de diagnóstico con el fin de detectar un marcado característico del aumento de ciclina E, o de la pérdida de p21 ó p27.

Las pruebas de diagnóstico normalmente se conducen sobre una muestra biológica seleccionada a partir de muestras de biopsia del tumor, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de
20 células tumorales alojadas), biopsias de heces, esputo, análisis de cromosomas, fluido pleural, fluido peritoneal, u orina.

Se ha encontrado, Rajagopalan y colaboradores (*Nature*. 4 de marzo de 2004; 428(6978):77-81), que había mutaciones presentes en CDC4 (también conocido como Fbw7 ó Archipiélago) en los
25 cánceres colo-rectales humanos y en los cánceres endometriales

(Spruck y colaboradores, *Cancer Res.* 15 de agosto de 2002; 62(16):4535-9). La identificación de un individuo que lleve una mutación en CDC4, puede significar que el paciente sería particularmente adecuado para el tratamiento con un inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina. Los tumores se pueden rastrear preferencialmente para determinar la presencia de una variante de CDC4 antes del tratamiento. El proceso de rastreo normalmente involucrará la secuenciación directa, el análisis de microarreglos de oligonucleótidos, o un anticuerpo específico del mutante.

Los métodos de identificación y análisis de mutaciones y aumento de proteína son bien conocidas por una persona experta en la materia. Los métodos de rastreo podrían incluir, pero no se limitan a, métodos convencionales, tales como reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), o hibridación *in situ*.

En el rastreo mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa, se evalúa el nivel de ARNm en el tumor, mediante la creación de una copia de ADNc del ARNm, seguida por amplificación del ADNc mediante reacción en cadena de la polimerasa. Los métodos de amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa, la selección de cebadores, y las condiciones para la amplificación, son conocidos por una persona experta en este campo. Las manipulaciones de ácidos nucleicos y la reacción en cadena de la polimerasa se llevan a cabo mediante métodos convencionales, como se describen, por ejemplo, en Ausubel, F. M. y colaboradores, Editores, *Current Protocols in*

Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc., ó Innis, M. A. y colaboradores, editores, PCR Protocols: a guide to methods and applications, 1990, Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que involucran técnicas de ácidos nucleicos también se describen en Sambrook y colaboradores, 2001, 3ª Edición, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. De una manera alternativa, se puede utilizar un estuche de diagnóstico comercialmente disponible para reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals), o la metodología estipulada en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659; 5,272,057; 5,882,864, y 6,218,529, e incorporadas a la presente como referencia.

Un ejemplo de una técnica de hibridación *in situ* para evaluar la expresión del ARNm, sería la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) (ver Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152:649).

En términos generales, la hibridación *in situ* comprende los siguientes pasos principales: (1) fijación del tejido que se vaya a analizar; (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico objetivo, y para reducir el enlace no específico; (3) la hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos al ácido nucleico de la estructura biológica o tejido; (4) los lavados posteriores a la hibridación para remover los fragmentos de ácidos nucleicos no enlazados en la hibridación, y (5) la detección de los fragmentos de ácidos nucleicos hibridados. Las sondas utilizadas

en estas aplicaciones normalmente se marcan, por ejemplo, con radioisótopos o reporteros fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo, de aproximadamente 50, 100, ó 200 nucleótidos, a aproximadamente 1,000 ó más nucleótidos, para hacer posible una hibridación específica con los ácidos nucleicos objetivos bajo condiciones restringentes. Los métodos convencionales para llevar a cabo el FISH se describen en Ausubel, F. M. y colaboradores, *Current Protocols in Molecular Biology*, 2004, John Wiley & Sons, Inc. y Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Barlett en *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, Segunda Edición; ISBN: 1-59259-706-2; marzo de 2004, páginas 077-088; Serie: Methods in Molecular Medicine.

De una manera alternativa, los productos de proteína expresados a partir de los ARNms se pueden ensayar mediante inmunohistoquímica de muestras tumorales, inmunoensayo en fase sólida con placas de microtitulación, Western blot, electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS bidimensional, ELISA, citometría de flujo, y otros métodos conocidos en la técnica para la detección de proteínas específicas. Los métodos de detección incluirían el uso de anticuerpos específicos del sitio. La persona experta reconocerá que todas estas técnicas bien conocidas para la detección del aumento de ciclina E, o de la pérdida de p21 ó p27, o para la detección de variantes de CDC4, podrían ser aplicables en el presente caso.

Por consiguiente, todas estas técnicas se podrían utilizar

también para identificar tumores particularmente adecuados para el tratamiento con los compuestos de la invención.

Los tumores con mutantes de CDC4 o con aumento, en particular sobre-expresión, de ciclina E, o pérdida de p21 ó p27, pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de cinasa dependiente de ciclina. Los tumores se pueden rastrear preferencialmente para determinar el aumento, en particular la sobre-expresión, de ciclina E (Harwell RM, Mull BB, Porter DC, Keyomarsi K.; *J. Biol. Chem.* 26 de marzo de 2004; 279(13):12659-705), o pérdida de p21 ó p27, o para determinar las variantes de CDC4 antes del tratamiento (Rajagopalan H, Jallepalli PV, Rago C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C.; *Nature*. 4 de marzo de 2004; 428(6978):77-81).

Los pacientes con linfoma de células de manto (MCL) se podrían seleccionar para el tratamiento con un compuesto de la invención, utilizando las pruebas de diagnóstico ilustradas en la presente. MCL es una entidad clinicopatológico distinta del linfoma que no es de Hodgkin, caracterizada por la proliferación de linfocitos de tamaño pequeño a mediano, con la co-expresión de CDC5 y CDC20, un cuadro clínico agresivo e incurable, y la translocación frecuente de t(11;14)(q13;q32). La sobre-expresión del ARNm de la ciclina D1, encontrada en el linfoma de células de manto (MCL), es un marcador de diagnóstico crítico. Yatabe y colaboradores (*Blood*. 1 de abril de 2000; 95(7):2253-61) propusieron que se debería incluir la positividad de la ciclina D1 como uno de los criterios estándares

para MCL, y que se debe explorar terapias innovadoras para esta enfermedad incurable con base en los nuevos criterios. Jones y colaboradores (*J. Mol. Diagn.*, mayo de 2004; 6(2):84-9) desarrollaron un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa, en tiempo real, para la expresión de ciclina D1 (CCND1), para ayudar en el diagnóstico del linfoma de células de manto (MCL). Howe y colaboradores (*Clin. Chem.* enero de 2004; 50(1):80-7) utilizaron reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa cuantitativa, en tiempo real, para evaluar la expresión del ARNm de la ciclina D1, y encontraron que la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa cuantitativa para el ARNm de la ciclina D1 normalizada para el ARNm de CD19, se puede utilizar en el diagnóstico de MCL en sangre, médula ósea, y tejido. De una manera alternativa, los pacientes con cáncer de mama se podrían seleccionar para el tratamiento con un inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina, utilizando las pruebas de diagnóstico ilustradas anteriormente. Las células tumorales comúnmente sobre-expresan la ciclina E, y se ha demostrado que la ciclina E se sobre-expresa en el cáncer de mama (Harwell y colaboradores, *Cancer Res*, 2000, 60, 481-489). Por consiguiente, el cáncer de mama se puede tratar en particular con un inhibidor de cinasa dependiente de ciclina, como se proporcionan en la presente.

Uso Antifúngico

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-

111

dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, como un agente antifúngico.

La sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (diferente de una sal de clorhidrato), se puede utilizar en medicina animal (por ejemplo, en el tratamiento de mamíferos, tales como seres humanos), o en el tratamiento de plantas (por ejemplo, en agricultura y horticultura), o como agente antifúngico en general, por ejemplo como conservador y desinfectante.

En una modalidad, la invención proporciona una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para utilizarse en la profilaxis o el tratamiento de una infección fúngica en un mamífero, tal como un ser humano.

También se proporciona el uso de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para la fabricación de un medicamento para utilizarse en la profilaxis o el tratamiento de una infección fúngica en un mamífero, tal como un ser humano.

Por ejemplo, las sales de adición de ácido de la invención se pueden administrar a pacientes humanos que sufran de, o que estén en riesgo de infección por, infecciones fúngicas tópicas causadas por, entre otros organismos, especies de *Candida*, *Trichophyton*, *Microsporum*, ó *Epidermophyton*, o en infecciones mucosas causadas

por *Candida Albicans* (por ejemplo, candidiasis thrush y vaginal). Las sales de adición de ácido de la invención también se pueden administrar para el tratamiento o la profilaxis de infecciones fúngicas sistémicas causadas, por ejemplo, por *Candida albicans*,
5 *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Histoplasma* ó *Blastomyces*.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición antifúngica para uso agrícola (incluyendo hortícola), la cual comprende una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del
10 ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, junto con un diluyente o vehículo agrícolamente aceptable.

La invención proporciona además un método para el tratamiento de un animal (incluyendo un mamífero, tal como un ser humano), una planta o una semilla, que tenga una infección fúngica,
15 el cual comprende tratar a este animal, planta, o semilla, o al lugar de esta planta o semilla, con una cantidad efectiva de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de
20 clorhidrato.

La invención también proporciona un método para el tratamiento de una infección fúngica en una planta o semilla, el cual comprende tratar la planta o la semilla con una cantidad antifúngicamente efectiva de una composición fungicida que
25 contenga una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido

4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato.

Se pueden utilizar ensayos de rastreo diferencial para determinar la especificidad de las sales de adición de ácido de la invención para las enzimas de cinasa dependiente de ciclina no humanas. Las sales que actúen específicamente sobre las enzimas de cinasa dependiente de ciclina de los patógenos eucarióticos se pueden utilizar como agentes antifúngicos o antiparasitarios. Se pueden utilizar inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina de *Candida*, CKSI, en el tratamiento de candidiasis. Los agentes antifúngicos se pueden utilizar contra infecciones del tipo definido anteriormente en la presente, o contra infección oportunistas que se presentan comúnmente en los pacientes debilitados e inmunosuprimidos, tales como los pacientes con leucemias y linfomas, las personas que estén recibiendo terapia inmunosupresora, y los pacientes con condiciones de predisposición, tales como diabetes mellitus o SIDA, así como para los pacientes no inmunosuprimidos.

Se pueden emplear los ensayos descritos en la técnica para rastrear la adaptabilidad para inhibir cuando menos un hongo implicado en micosis, tal como candidiasis, aspergilosis, mucormicosis, blastomicosis, geotricosis, criptococcosis, cromoblastomicosis, coccidioidomicosis, conidiosporosis, histoplasmosis, maduromicosis, rinosporidosis, nocardiosis, para-actinomicosis, penicilosis, monoliásis, o esporotricosis. Los ensayos

de rastreo diferencial se pueden utilizar para identificar los agentes antifúngicos que puedan tener un valor terapéutico en el tratamiento de aspergilosis, haciendo uso de los genes de cinasa dependiente de ciclina clonados a partir de levadura, tales como *Aspergillus* 5 *fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, ó *Aspergillus terreus*, o en donde la infección micótica sea muconicosis, en ensayo de cinasa dependiente de ciclina se puede derivar de levadura, tal como *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oryzae*, *Absidia corymbifera*, *Absidia ramosa*, ó *Mucorpusillus*. Las fuentes de otras 10 enzimas de cinasa dependiente de ciclina incluyen al patógeno *Pneumocystis carinii*.

A manera de ejemplo, se puede llevar a cabo la evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de las sales de adición de ácido de la invención, mediante la determinación de la concentración 15 inhibidora mínima (M.I.C.), que es la concentración de los compuestos de prueba, en un medio adecuado, en donde no se presente el crecimiento del microorganismo particular. En la práctica, una serie de placas de ágar, cada una teniendo al compuesto de prueba incorporado en una concentración particular, se inoculan con 20 un cultivo estándar, por ejemplo, de *Candida albicans*, y luego se incuba cada placa durante un período apropiado a 37°C. Entonces se examinan las placas para determinar la presencia o ausencia de crecimiento del hongo, y se anota el valor de concentración inhibidora mínima apropiado. De una manera alternativa, se puede 25 llevar a cabo un ensayo de turbidez en cultivos líquidos, y se puede

encontrar un protocolo que ilustra un ejemplo de este ensayo en los ejemplos que se encuentran más adelante.

La evaluación *in vivo* de las sales de adición de ácido se puede llevar a cabo en una serie de niveles de dosis mediante inyección intraperitoneal o intravenosa, o mediante administración oral, a ratones que se han inoculado con un hongo, por ejemplo una cepa de *Candida albicans* o *Aspergillus flavus*. La actividad de los compuestos se puede evaluar mediante el monitoreo del crecimiento de la infección fúngica en grupos de ratones tratados y no tratados (mediante histología, o recuperando los hongos de la infección). La actividad se puede medir en términos del nivel de dosis en el cual el compuesto proporciona una protección del 50 por ciento contra el efecto letal de la infección (PD₅₀).

Para uso antifúngico humano, una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, se puede administrar sola o mezclada con un vehículo farmacéutico seleccionado de acuerdo con la vía de administración pretendida y la práctica farmacéutica convencional. Por consiguiente, por ejemplo, la sal se puede administrar oralmente, parenteralmente, intravenosamente, intramuscularmente, o subcutáneamente, por medio de las formulaciones descritas anteriormente, en la sección con el encabezado de "Formulaciones Farmacéuticas".

Para la administración oral y parenteral a pacientes humanos, el nivel de dosificación diaria de la sal puede ser de 0.01 a 10

miligramos/kilogramo (en dosis divididas), dependiendo, entre otras cosas, de la potencia de las sales cuando se administren ya sea por la vía oral o parenteral. Las tabletas o cápsulas de las sales pueden contener, por ejemplo, de 5 miligramos a 0.5 gramos del compuesto activo, para administrarse individualmente, o dos o más en un tiempo apropiado. El médico, en cualquier caso, determinará la dosificación real (cantidad efectiva) que será más adecuada para un paciente individual, y variará con la edad, el peso, y la respuesta del paciente particular.

De una manera alternativa, las sales se pueden administrar en la forma de un supositorio o pesario, o se pueden aplicar tópicamente en la forma de una loción, solución, crema, ungüento, o polvo. Por ejemplo, se pueden incorporar en una crema consistente en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida; o se pueden incorporar, en una concentración de entre el 1 y el 10 por ciento, en un ungüento consistente en una cera blanca o en una base de parafina blanda y blanca, junto con los estabilizantes y conservadores que puedan ser requeridos.

En adición a los usos terapéuticos descritos anteriormente, los agentes antifúngicos desarrollados con estos ensayos de rastreo diferencial, se pueden utilizar, por ejemplo, como conservadores en materiales alimenticios, suplementos alimenticios para promover la ganancia de peso en el ganado, o en formulaciones desinfectantes para el tratamiento de materia no viva, por ejemplo para descontaminar equipo y sales de hospitales. De una forma similar, la

comparación lado a lado de la inhibición de una cinasa dependiente de ciclina de mamífero y una cinasa dependiente de ciclina de insecto, tal como el gen CDK5 de *Drosophila* (Hellmich y colaboradores (1994) FEBS Lett. 356:317-21), permitirá hacer la selección de entre los compuestos de la presente, de los inhibidores que discriminen entre las enzimas humanas/de mamífero y de insecto. De conformidad con lo anterior, la presente invención contempla expresamente el uso y la formulación de los compuestos de la invención en insecticidas, tal como para utilizarse en el manejo de insectos como la mosca de la fruta.

En todavía otra modalidad, se pueden seleccionar algunas de las sales objeto, con base en la especificidad inhibidora para las cinasas dependientes de ciclina de plantas en relación con la enzima de mamífero. Por ejemplo, una cinasa dependiente de ciclina de planta se puede disponer en un rastreo diferencial con una o más de las enzimas humanas, para seleccionar los compuestos de mayor selectividad para inhibir la enzima de la planta. Por consiguiente, la presente invención contempla de una manera específica, las formulaciones de las sales objeto para aplicaciones agrícolas, tal como en la forma de un desfoliante o similar.

Para propósitos agrícolas y hortícolas, las sales de la invención se pueden utilizar en la forma de una composición formulada según sea apropiado para el uso particular y el propósito pretendido. Por consiguiente, las sales se pueden aplicar en la forma de polvos, o gránulos, revestimientos de semillas, soluciones,

dispersiones o emulsiones acuosas, inmersiones, rocíos, aerosoles, o humos. Las composiciones también se pueden suministrar en la forma de polvos dispersables, gránulos o granos, o concentrados para diluirse antes de usarse. Estas composiciones pueden contener los vehículos, diluyentes, o adyuvantes convencionales, como son conocidos y aceptables en agricultura y horticultura, y se pueden fabricar de acuerdo con los procedimientos convencionales. Las composiciones también pueden incorporar otros ingredientes activos, por ejemplo, los compuestos que tengan actividad herbicida o insecticida, o un fungicida adicional. Los compuestos y las composiciones se pueden aplicar en un número de maneras, por ejemplo, se pueden aplicar directamente al follaje de la planta, a los tallos, a las ramas, semillas, o raíces, o a la tierra o a otro medio de crecimiento, y se pueden utilizar no solamente para erradicar la enfermedad, sino también profilácticamente para proteger a las plantas o a las semillas del ataque. A manera de ejemplo, las composiciones pueden contener del 0.01 al 1 por ciento en peso del ingrediente activo. Para utilizarse en el campo, los probables índices de aplicación del ingrediente activo pueden ser de 50 a 5,000 gramos/hectárea.

La invención también contempla el uso de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, en el control de hongos de decaimiento de madera, y en el tratamiento de la tierra en donde crecen las plantas, los campos

inundados para plántulas, o el agua para perfusión. La invención también contempla el uso de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, diferente de una sal de clorhidrato, para
5 proteger al grano almacenado y a otros lugares que no sean de plantas, de la infestación fúngica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es una ilustración de la estructura tridimensional del metan-sulfonato de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-
10 dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, determinada mediante un estudio de difracción de rayos-X de un solo cristal.

La Figura 2 es una representación gráfica de la estructura generada por un estudio de difracción de rayos-X del metan-sulfonato de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-
15 pirazol-3-carboxílico.

La Figura 3 es un difractograma en polvo de rayos-X de la sal de ácido metan-sulfónico de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

La Figura 4 es un difractograma en polvo de rayos-X de la sal de ácido acético de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-
20 benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

La Figura 5 es una exploración de calorimetría de exploración diferencial de la sal de acetato de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

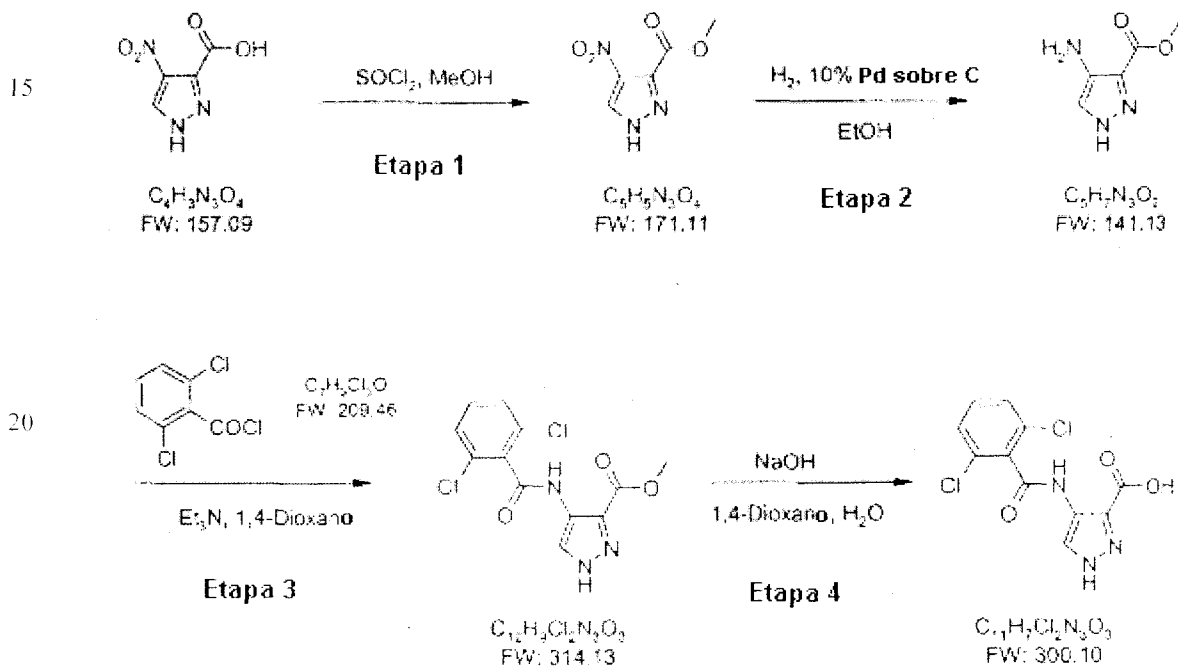
EJEMPLOS

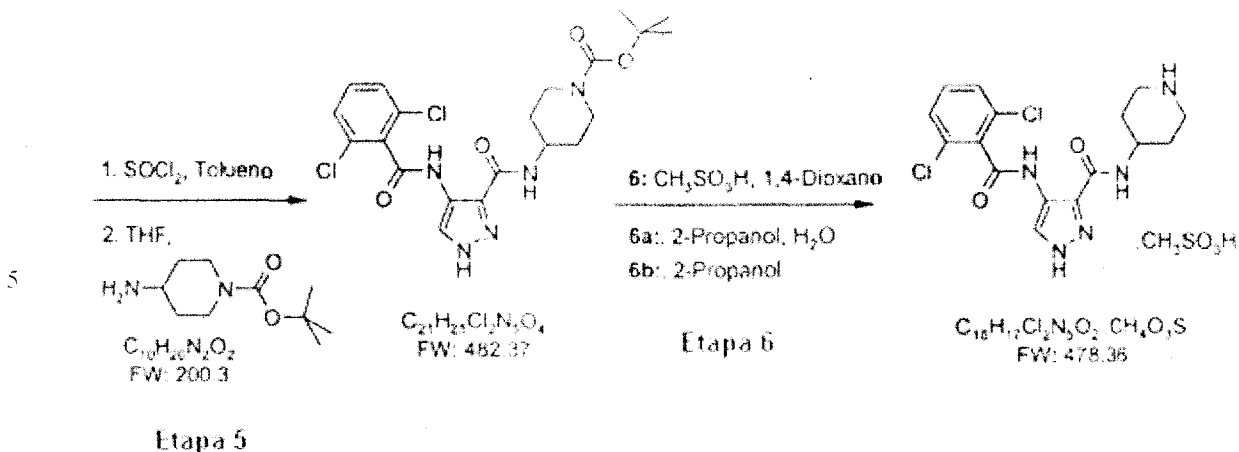
Ahora se ilustrará la invención, pero sin limitación, haciendo referencia a las modalidades específicas descritas en los siguientes Ejemplos.

EJEMPLO 1

Síntesis de la sal de ácido metansulfónico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, y cristales de la misma

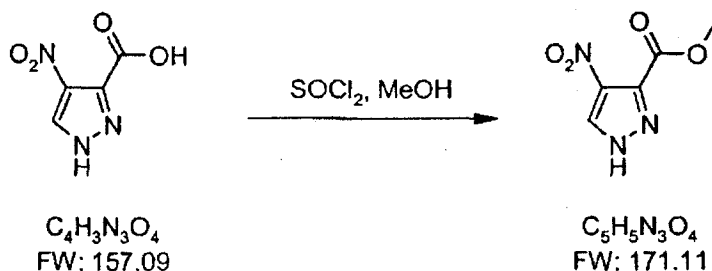
La sal de ácido metansulfónico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico se puede preparar mediante la ruta sintética mostrada en el siguiente Esquema.





Etapa 1: Preparación del metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico

10



15

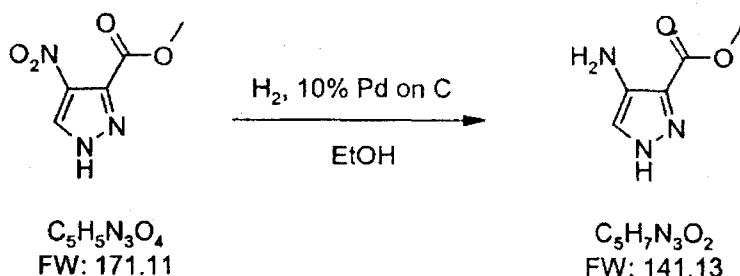
Un recipiente de reacción equipado con un termómetro digital y un agitador, se cargó con el ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico (1.117 kilogramos, 7.11 moles, 1 por ciento en peso), y metanol (8.950 litros, 8 volúmenes). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno, se enfrió de 0°C a 5°C , se agregó cloruro de tionilo (0.581 litros, 8.0 moles, 0.52 volúmenes) durante 180 minutos, y la mezcla resultante se dejará calentar y agitar de 18°C a 22°C durante la noche, después de cuyo tiempo, el análisis de ^1H -RMN (d_6 -DMSO) indicó la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida de 40°C a 45°C , el residuo se trató

20

25

con tolueno y se volvió a concentrar (2.250 litros 3 veces, 2 volúmenes 3 veces) bajo presión reducida de 40°C a 45°C, para dar el metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico como un sólido grisáceo (1.210 kilo-gramos, 99.5 por ciento).

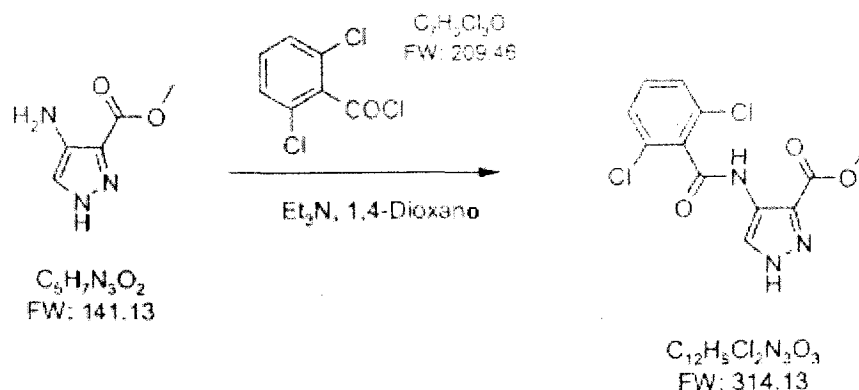
5 Etapa 2: Preparación del metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-
3-carboxílico



Un recipiente de reacción de 20 litros, equipado con un termómetro digital y un agitador, se cargó con paladio sobre carbón
15 (pasta húmeda al 10 por ciento, 0.170 kilo-gramos, 0.14 por ciento en peso) bajo nitrógeno. En un recipiente separado, una pasta del metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico (1.210 kilogramos, 7.07 moles, 1 por ciento en peso) en etanol (12.10 litros, 10 volúmenes) se calentó a 30-35°C para efectuar la disolución, y la
20 solución se agregó al catalizador bajo nitrógeno. En seguida de una secuencia de purga con nitrógeno-hidrógeno, se introdujo una atmósfera de hidrógeno, y la mezcla de reacción se mantuvo a 28-30°C, hasta que se observó la terminación de la reacción (de 5 a 10 horas) mediante análisis de ^1H -RMN (d_6 -DMSO). En seguida de un
25 ciclo de purga, la mezcla de reacción bajo nitrógeno se filtró, y los

licores se concentraron bajo presión reducida, para dar el metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-3-carboxílico. (0.987 kilogramos, 98.9 por ciento).

Etapas 3: Preparación del metil-éster del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

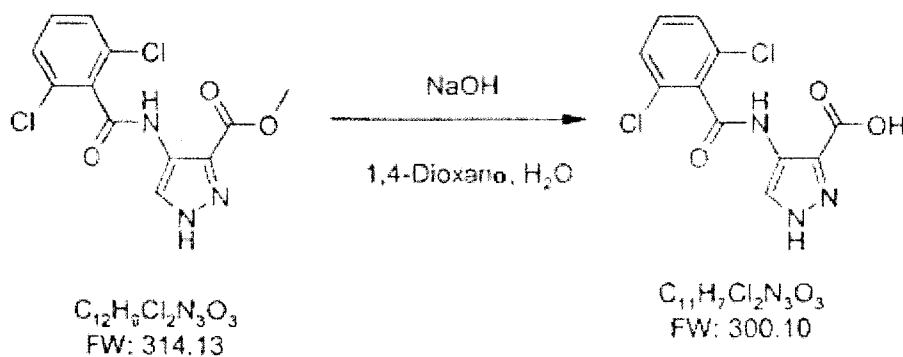


Una solución del metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-3-carboxílico (0.634 kilogramos, 4.49 moles, 1 por ciento en peso) en 1,4-dioxano (8.90 litros, 9 volúmenes) bajo nitrógeno, se trató con trietil-amina (0.761 litros, 5.46 moles, 1.2 volúmenes), seguida por cloruro de 2,6-dicloro-benzoílo (0.710 litros, 4.96 moles, 0.72 volúmenes), de tal manera que la temperatura interna se mantuviera en el intervalo de 20°C a 25°C. El cloruro de 2,6-dicloro-benzoílo residual se lavó con un enjuague fino de 1,4-dioxano (0.990 litros, 1 volumen), y la mezcla de reacción se agitó de 18°C a 25°C hasta completarse (16 horas) mediante análisis de cromatografía de capa delgada (eluyente: acetato de etilo : heptanos, 3:1; R_f _{amina} 0.25, R_f _{producto} 0.65). La mezcla de reacción se filtró, la torta del filtro se lavó con 1,4-dioxano (0.990 litros 2 veces, 1 volumen 2 veces), y los filtrados combinados (rojos) progresaron hasta la Etapa 4 sin

aislamiento adicional.

Etapa 4: Preparación del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

5



10

A una solución de hidróxido de sodio (0.484 kilo-gramos, 12.1 moles) en agua (6.05 litros), se le cargó una solución del éster de la Etapa 3 en una porción: (1.099 kilo-gramos, 3.50 moles en 6.00 litros). La mezcla de reacción se agitó hasta terminar a 20-25°C, como fue determinado mediante análisis de cromatografía de capa delgada (eluyente: acetato de etilo:heptanos, 3:1, R_f éster 0.65, R_f Etapa 4 línea base). La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida a 45-50°C, el residuo oleoso se diluyó con agua (9.90 litros), y se acidificó a un pH de 1 con ácido clorhídrico concentrado, de tal manera que la temperatura se mantuvo debajo de 30°C. El precipitado resultante se recolectó mediante filtración, se lavó con agua (5.00 litros), se jaló para secarse sobre el filtro, y subsecuentemente se lavó con heptanos (5.00 litros). La torta del filtro se cargó en un matraz de evaporador giratorio de 20 litros, y el secado se llevó a cabo azeotrópicamente con tolueno (4.50 litros, 2 veces), para proporcionar el ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-

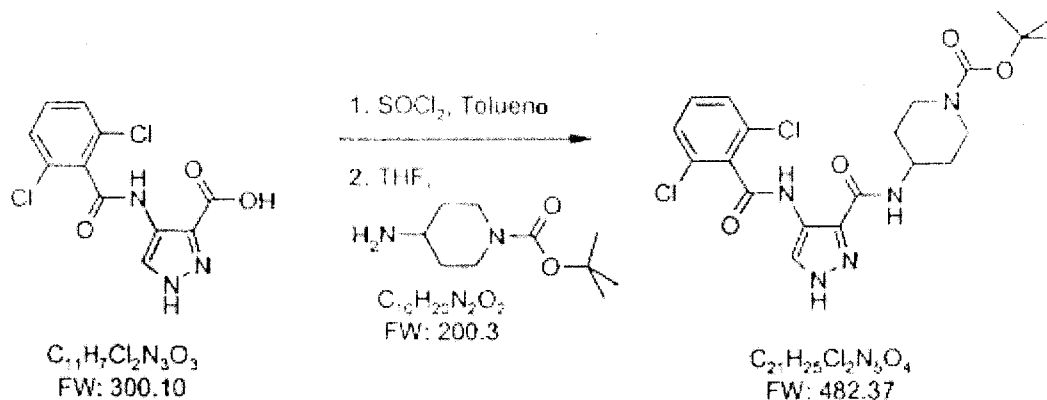
25

pirazol-3-carboxílico como un sólido amarillo (1.044 kilogramos, aproximadamente el 99.5 por ciento).

Etapa 5: Preparación del terbutil-éster del ácido 4-{[4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino}-piperidin-1-carboxílico

5

10



15

20

El producto de la Etapa 4 (1.0 por ciento en peso), y tolueno (10.0 volúmenes), se cargaron en un matraz de pestaña del tamaño adecuado, equipado con un agitador mecánico, embudo de goteo, y termómetro. El contenido se agitó bajo nitrógeno de 16 °C a 25°C, y se agregó lentamente cloruro de tionilo (0.3 volúmenes). Luego el contenido se calentó a 80-100°C, y se agitó a esta temperatura hasta que se juzgó que la reacción estaba completa mediante ^1H -RMN. En esta etapa se podía agregar más tolueno (hasta 10 volúmenes) si el contenido llegara a quedar demasiado espeso para agitarse. Una vez completa, la mezcla se enfrió entre 40°C y 50°C, y luego se concentró al vacío de 45°C a 50°C hasta secarse. El residuo se secó entonces azeotrópicamente con tolueno (2.0 volúmenes, 3 veces).

25

El sólido aislado se transfirió a un matraz de tamaño adecuado, y se cargó tetrahidrofurano (5.0 volúmenes). El contenido se agitó

bajo nitrógeno de 16°C a 25°C, y se agregó trietil-amina (0.512 volúmenes). En un matraz separado, se cargaron terbutil-éster del ácido 4-amino-piperidin-1-carboxílico (0.704 por ciento en peso) y tetrahidrofurano (5.0 volúmenes). El contenido se agitó hasta que se
5 logró la disolución completa, y luego la solución se cargó en el matraz de reacción, manteniendo la temperatura entre 16°C y 30°C. Entonces la mezcla de reacción se calentó entre 45°C y 50°C, y el contenido se agitó hasta que se juzgó completa mediante ¹H-RMN. El contenido se enfrió entonces entre 16°C y 25°C, y se cargó agua (5.0
10 volúmenes). Se agregaron heptanos mixtos (0.5 volúmenes), el contenido se agitó durante hasta 10 minutos, y las capas se separaron. Luego se extrajo la fase acuosa con tetrahidrofurano : heptanos mixtos [(9:1), 5.0 volúmenes, 3 veces]. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (2.5 volúmenes), y luego se
15 concentraron al vacío de 40°C a 45°C. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (5.0 volúmenes, 3 veces), y se concentró a sequedad, para dar el producto de la Etapa 5 crudo.

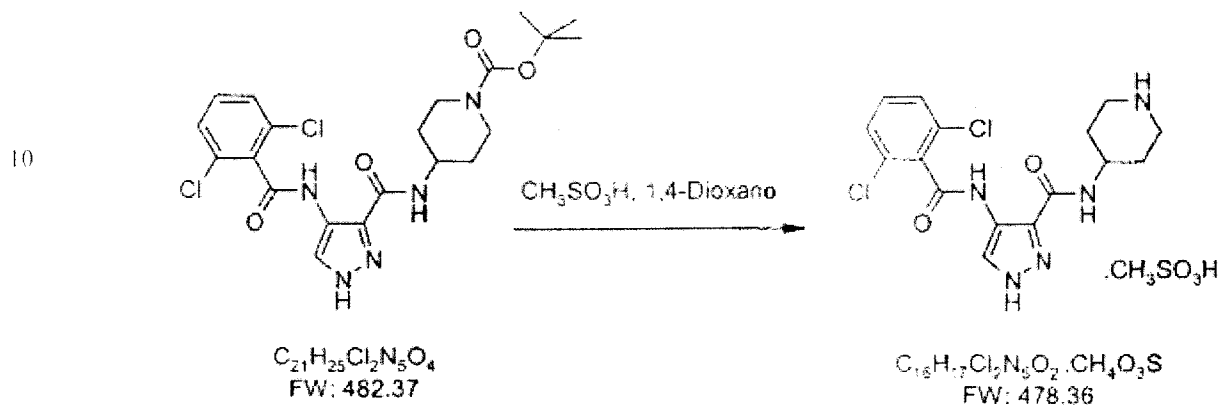
Luego el sólido se transfirió a un matraz del tamaño adecuado, se agregó metanol : tolueno [(2.5:97.5), 5.0 volúmenes], y la pasta
20 se agitó bajo nitrógeno durante 3 a 18 horas. El contenido se filtró, la torta del filtro se lavó con tolueno (0.7 volúmenes, 3 veces), y luego el sólido se secó al vacío de 40°C a 45°C, para dar el terbutil-éster del ácido 4-{[4-(2,6-dicloro-benzoilamino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino}-piperidin-1-carboxílico como un sólido grisáceo.

25 De esta manera se procesaron dos lotes del producto de la

Etapa 4 (0.831 kilogramos por lote), para dar un total de 2.366 kilogramos (rendimiento del 88.6 por ciento) del terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6-dicloro-benzoyl-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino]-piperidin-1-carboxílico.

5

Etapa 6: Preparación del metansulfonato de piperidin-4-ilamina del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoyl-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico



15

El producto de la Etapa 5 (1.0 por ciento en peso) y 1,4-dioxano (30.0 volúmenes) se cargaron en un matraz de pestaña del tamaño adecuado, equipado con un agitador mecánico, embudo de goteo, y termómetro. El contenido se agitó bajo nitrógeno, y se calentó entre 80°C y 90°C. Se agregó ácido metansulfónico (0.54 volúmenes) durante 30 a 60 minutos, y luego el contenido se calentó a 95-105°C, y se agitó en este intervalo de temperatura, hasta que se juzgó completa la reacción mediante ¹H-RMN. Una vez completa, el contenido se enfrió entre 20°C y 30°C, y el precipitado resultante se recolectó mediante filtración. La torta del filtro se lavó con 2-propanol (2.0 volúmenes, 2 veces), y se jaló para secarse sobre el

20

25

filtro durante 3 a 24 horas, para dar el metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como un sólido grisáceo de flujo libre (del 80.0 al 120.0 por ciento en peso/peso, no corregido por las impurezas o solutos).

Se procesaron varios lotes del producto de la Etapa 5 de esta manera, y en la siguiente Tabla 1 se estipulan los detalles de las cantidades de material de partida y producto para cada lote.

Tabla 1 - Rendimientos del paso
de desprotección - Etapa 6

Lote	Introducción (g) de (terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6- dicloro-benzoil- amino)-1H-pirazol-3- carbonil]-amino}- piperidin-1- carboxílico)	Producción (g) de metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido [4-(2,6- dicloro-benzoil- amino)-1H-pirazol-3- carboxílico]	Pureza Química (HPLC % área)
1	590.0	579.6 99.1%th, 98.2% peso/peso	97.88
2	521.0	532.7 103.1%th, 102.2% peso/peso	98.09

3	523.8	511.7 98.5%th, 97.7% peso/peso	98.17
4	518.4	596.3 116.0%th, 115.0% peso/peso	98.24
5	563.2	600.1 107.4%th, 106.6% peso/peso	98.16
6	563.1	565.2 101.2%th, 100.4% peso/peso	98.49
7	560.4	553.9 99.7%th, 98.8% peso/peso	98.70
8	569.7	560.6 99.2%th, 98.4% peso/peso	98.41

20 Etapa 6a: Recristalización del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

El producto de la Etapa 6 se recristalizó para asegurar que cualesquiera niveles residuales del producto protegido por Boc de la Etapa 5, no fueran mayores del 0.25 por ciento. Se recristalizaron
25 cuatro lotes del producto de la Etapa 6 empleando el siguiente

protocolo.

El producto de la Etapa 6 crudo y 2-propanol (10.0 volúmenes) se cargaron en un matraz del tamaño adecuado equipado con un agitador mecánico, embudo de goteo, y termómetro. El contenido se agitó bajo nitrógeno, y se calentó entre 75°C y 85°C. Luego se cargó agua (hasta 2.5 volúmenes) al contenido, hasta que se obtuvo una solución transparente. Entonces el contenido se enfrió entre 40°C y 60°C, y se concentró al vacío de 40°C a 50°C, hasta que el volumen de reacción se redujo por aproximadamente el 50 por ciento. Se cargó 2-propanol (3.0 volúmenes) en el matraz, y el contenido se concentró de 40°C a 50°C, hasta que se removieron aproximadamente 3.0 volúmenes del solvente. Entonces este proceso se repitió dos veces más con 2-propanol (3.0 volúmenes, 2 veces), y se verificó el contenido de agua. Luego la pasta resultante se enfrió entre 0°C y 5°C, y se agitó a esta temperatura durante 1 a 2 horas. El contenido se filtró, la torta del filtro se lavó con 2-propanol (1.0 volúmenes, 2 veces), y luego se jaló para secarse sobre el filtro durante hasta 24 horas. El sólido se transfirió a charolas de secado y se secó al vacío de 45°C a 50°C hasta obtener un peso constante. para dar el metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como un sólido grisáceo (60.0 a 100.0 por ciento en peso/peso).

Los rendimientos de la recristalización para los cuatro lotes estuvieron en el intervalo de entre el 85.6 por ciento y el 90.4 por ciento, y las purezas del producto recristalizado estuvieron en el

intervalo del 99.29 por ciento al 99.39 por ciento. Una segunda recristalización aumentó la pureza todavía más.

El metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico producido mediante esta ruta tuvo un punto de fusión (mediante calorimetría de exploración diferencial) de 379.8°C.

El espectro infrarrojo de la sal de metansulfonato (método de disco de KBr) incluyó los picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} .

Sin desear obligarse por ninguna teoría, se cree que los picos infrarrojos se pueden asignar a los componentes estructurales de la sal como sigue:

<u>Pico:</u>	<u>Debido a:</u>
3233 cm^{-1}	N-H
3002 cm^{-1}	C-H aromático
2829 cm^{-1}	C-H alifático
1679 cm^{-1}	amida C=O
1632, 1560 cm^{-1}	amida
1430 cm^{-1}	C-H alifático
1198 cm^{-1}	SO ₂ -O
1037 cm^{-1}	C-Cl aromático
909, 784 cm^{-1}	C-H aromático

Remoción del producto protegido por Boc residual de la Etapa 5.

En algunos casos, cuando la sal de metansulfonato se disolvió en el regulador de acetato, se observó un precipitado fino consistente en trazas residuales de la base libre protegida por Boc.

5 Se pueden emplear varias técnicas para remover o prevenir la formación del precipitado, como se estipula más adelante.

(a) Filtración

Una mezcla de la sal de metansulfonato en regulador de acetato 200 mM se extrajo de un frasco hacia una jeringa de un solo
10 uso de 20 mililitros, utilizando una aguja estéril, y luego se conectó a la jeringa un filtro de grado clínico de 0.2 micras (una unidad de filtro de un solo uso estéril Sartorius Minisart). El émbolo de la jeringa se oprimió lentamente, y el filtrado se recolectó en un frasco de vidrio transparente limpio. El contenido del frasco fue una solución incolora
15 transparente de la sal de metansulfonato libre de materia en partículas.

(b) Calentamiento en ácido acuoso

Una mezcla de la sal de metansulfonato y ácido metansulfónico (0.4 equivalentes) en agua (10 volúmenes), se calentó a 100°C
20 durante 4 horas, y luego se enfrió a 60°C. El análisis mediante cromatografía de capa delgada indica que la sal de metansulfonato estaba presente como un solo componente. Se agregó 2-propanol (10 volúmenes), y la mezcla se enfrió a 40°C. La mezcla se redujo al vacío hasta aproximadamente 10 volúmenes, y luego se agregó una
25 porción adicional de 2-propanol (10 volúmenes), y la mezcla se

redujo nuevamente hasta 10 volúmenes. Este ciclo se repitió tres veces más. La mezcla se enfrió en un baño de hielo, y el sólido formado se recolectó mediante filtración, se lavó con 2-propanol (5 volúmenes), y se secó al vacío, para dar la sal de metansulfonato como un sólido blanco a grisáceo.

(c) Extracciones orgánicas-acuosas

Una mezcla de la sal de metansulfonato y ácido metansulfónico (0.4 equivalentes) en agua (10 volúmenes), se calentó a 100°C durante 3 horas, y luego se enfrió a temperatura ambiente. A esta mezcla se le agregó tetra-hidrofurano-heptano (9:1, 10 volúmenes), y la mezcla resultante se agitó vigorosamente para dar una solución. Las capas se separaron, y la fase acuosa se lavó con tetrahidrofurano-heptano (9:1, 10 volúmenes, 2 veces), y luego acetato de etilo (10 volúmenes, 2 veces). A la fase acuosa se le agregó 2-propanol (10 volúmenes), y la solución se redujo al vacío hasta aproximadamente 5 volúmenes, y luego se agregó una porción adicional de 2-propanol (10 volúmenes). y la mezcla se redujo nuevamente hasta 5 volúmenes. Este ciclo se repitió tres veces más. El sólido formado se recolectó mediante filtración, se lavó con 2-propanol (5 volúmenes), y se secó al vacío, para dar la sal de metansulfonato como un sólido blanco a grisáceo.

(d) Cromatografía

El uso de técnicas cromatográficas puede proporcionar una ruta para remover las impurezas no polares de la sal de metansulfonato. Se prevé que el uso de métodos en fase inversa

será particularmente útil.

EJEMPLO 2

Determinación de la estructura del cristal del metan-sulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico mediante difracción de rayos-X

El compuesto de metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico se preparó como se describe en el Ejemplo 1. El cristal utilizado para el experimento de difracción fue una placa incolora con dimensiones de 0.05 x 0.08 x 0.14 milímetros cúbicos, obtenida mediante precipitación a partir de una solución de agua mediante 2-propanol. Los datos cristalográficos se recolectaron a 93 K utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) a partir de un ánodo giratorio Rigaku RU3HR, óptica confocal azul Osmic, y un detector de CCD Rigaku Júpiter. Las imágenes se recolectaron en dos exploraciones ω a $2\theta = 15$ y 90° , con un detector a una distancia del cristal de 67 milímetros. La recopilación de datos se controló mediante el software CrystalClear, y las imágenes se procesaron y se escalaron mediante Dtrek. Debido a un alto coeficiente de absorción ($\mu = 4.01 \text{ mm}^{-1}$), se tuvieron que corregir los datos utilizando corrección de absorción Fourier de 4° orden. Se encontró que los cristales pertenecen a un grupo de espacio orto-rómbico *Pbca* (# 61) con parámetros de celosía de cristal en 93 K $a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$. Los números entre paréntesis representan la desviación (i.e., incertidumbre estándar).

Los cristales descritos anteriormente y la estructura del cristal, forman un aspecto adicional de la invención.

La estructura del cristal se resolvió empleando métodos directos implementados en SHELXL-97. Se utilizaron los datos de intensidad para un total de 2710 reflexiones únicas en un intervalo de resolución de 20 a 0.9 Å ($2.3 < \theta < 58.87$) en el refinamiento de 271 parámetros cristalográficos mediante SHELXL-97. Los parámetros estadísticos finales fueron: $wR2 = 0.2115$ (todos los datos), $R1 = 0.0869$ (datos con $I > 2\sigma(I)$) y buen ajuste de $S = 1.264$.

Se encontró una molécula de base libre protonada y un anión de mesilato en la unidad asimétrica. La composición elemental de la unidad asimétrica fue $C_{17}H_{21}Cl_2N_5O_5S$, y la densidad calculada de los cristales es de 1.49 Mg/m³. Se generaron átomos de hidrógeno sobre fondos geométricos, mientras que se confirmó la localización de los átomos de hidrógeno enlazados con heteroátomos mediante inspección de mapas de diferencias $F_o - F_c$. Los parámetros de posición y térmicos de los átomos de hidrógeno se limitaron al recorrido sobre los átomos que no eran de hidrógeno correspondientes. El movimiento térmico de los átomos que no eran de hidrógeno se modeló mediante factores térmicos anisotrópicos (ver la Figura 1).

La estructura del cristal contiene un enlace de hidrógeno intramolecular (N15H...O7 2.690 Å) y cinco enlaces de hidrógeno intermoleculares (ver la figura de empaque de la Figura 2). Tres de ellos enlazan el nitrógeno de piperidina protonado con dos aniones

de mesilato. El primer anión de mesilato está enlazado a través de un solo enlace de hidrógeno N12H12A...O2M 2.771 Å, mientras que el segundo está involucrado en un enlace de hidrógeno bifurcado con interacciones N12H12B...O1M 2.864 Å y N12H12B...O2M 3.057 Å. El
5 oxígeno de mesilato restante O3M está involucrado en un enlace de hidrógeno N8H8...O3M 2.928 Å. Las moléculas de base libre protonadas vecinas están enlazadas entre sí mediante un enlace de hidrógeno N15H15...O7 2.876 Å, así como mediante un contacto relativamente largo N15H15...N2 3.562 Å y la apilación de los anillos
10 de fenilo y pirazol. Estas interacciones se propagan infinitamente a lo largo del eje *b*. El empaque del cristal contiene capas bidimensionales (en el plano *ab*) de aniones de mesilato emparedados por una extensa red de enlaces de hidrógeno cargados con dos capas de cationes de base libre protonados. Las capas de
15 emparedado bidimensional compactas se unen entre sí a lo largo del eje *c* mediante la apilación de los anillos de fenilo, en involucrando la interacción de cloro...fenilo con Cl2...Cl8 3.341 Å.

En la Figura 2 se proporciona una representación gráfica de la estructura generada por el estudio de difracción de rayos-X.

20 -Las coordenadas para los átomos que forman la estructura del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, son como se estipulan en la Tabla 2.

Tabla 2

Grupo de espacio: *Pbca*

Célula unitaria en 93K teniendo a, b, y c el 5 por ciento de incertidumbre estándar:

5 a = 8.9

b = 12.4

c = 38.5

alfa = beta = gamma = 90

Coordenadas en el formato cif:

10 ciclo_

_átomo_sitio_marca

_átomo_sitio_tipo_símbolo

_átomo_sitio_frac_x

_átomo_sitio_frac_y

15 _átomo_sitio_frac_z

_átomo_sitio_U_iso_o_equiv

_átomo_sitio_adp_tipo

_átomo_sitio_ocupación

_átomo_sitio_simetría_multiplicidad

20 _átomo_sitio_calc_indicador

_átomo_sitio_refinamiento_indicadores

_átomo_sitio_desorden_ensamble

_átomo_sitio_desorden_grupo

25

S1M S 0.13517(17) 0.18539(13) 0.03193(5) 0.0286(5) Uani 1 1 d . . .
 O1M O 0.1193(5) 0.2208(3) -0.00409(14) 0.0326(13) Uani 1 1 d . . .
 O2M O 0.1551(5) 0.0681(3) 0.03330(13) 0.0331(13) Uani 1 1 d . . .
 O3M O 0.0151(5) 0.2217(4) 0.05453(14) 0.0368(13) Uani 1 1 d . . .
 C4M C 0.3036(8) 0.2420(6) 0.0475(2) 0.0355(19) Uani 1 1 d . . .
 H4M1 H 0.3855 0.2197 0.0329 0.053 Uiso 1 1 calc R . .
 H4M2 H 0.3212 0.2181 0.0708 0.053 Uiso 1 1 calc R . .
 H4M3 H 0.2959 0.3189 0.0471 0.053 Uiso 1 1 calc R . .
 C11 C1 0.26158(17) 0.18137(12) 0.34133(5) 0.0325(5) Uani 1 1 d . . .
 C12 C1 0.75698(19) 0.16766(13) 0.26161(5) 0.0366(6) Uani 1 1 d . . .
 N1 N 0.6277(6) -0.2419(4) 0.34903(16) 0.0276(14) Uani 1 1 d . . .
 H1 H 0.5932 -0.3064 0.3484 0.033 Uiso 1 1 calc R . .
 N2 N 0.7505(5) -0.2150(4) 0.36663(16) 0.0286(15) Uani 1 1 d . . .
 C3 C 0.7635(7) -0.1082(5) 0.36163(19) 0.0265(17) Uani 1 1 d . . .
 C4 C 0.6453(7) -0.0708(5) 0.34039(18) 0.0211(16) Uani 1 1 d . . .
 C5 C 0.5616(7) -0.1594(5) 0.3322(2) 0.0277(18) Uani 1 1 d . . .
 H5 H 0.4770 -0.1623 0.3181 0.033 Uiso 1 1 calc R . .
 C6 C 0.8878(7) -0.0454(5) 0.3760(2) 0.0269(17) Uani 1 1 d . . .
 O7 O 0.9037(5) 0.0506(3) 0.36722(14) 0.0368(13) Uani 1 1 d . . .
 N8 N 0.9821(6) -0.0939(4) 0.39821(15) 0.0267(14) Uani 1 1 d . . .
 H8 H 0.9626 -0.1584 0.4048 0.032 Uiso 1 1 calc R . .
 C9 C 1.1147(7) -0.0417(5) 0.41139(19) 0.0253(17) Uani 1 1 d . . .
 H9 H 1.1272 0.0261 0.3987 0.030 Uiso 1 1 calc R . .
 C10 C 1.1019(8) -0.0148(5) 0.4502(2) 0.0330(18) Uani 1 1 d . . .
 H10A H 1.0156 0.0315 0.4540 0.040 Uiso 1 1 calc R . .
 H10B H 1.0866 -0.0804 0.4633 0.040 Uiso 1 1 calc R . .
 C11 C 1.2429(7) 0.0412(5) 0.4630(2) 0.0349(19) Uani 1 1 d . . .
 H11A H 1.2533 0.1102 0.4515 0.042 Uiso 1 1 calc R . .
 H11B H 1.2355 0.0538 0.4878 0.042 Uiso 1 1 calc R . .
 N12 N 1.3784(6) -0.0279(4) 0.45532(16) 0.0258(14) Uani 1 1 d . . .
 H12A H 1.4618 0.0069 0.4623 0.031 Uiso 1 1 calc R . .
 H12B H 1.3716 -0.0892 0.4676 0.031 Uiso 1 1 calc R . .
 C13 C 1.3929(7) -0.0546(6) 0.4181(2) 0.0314(18) Uani 1 1 d . . .
 H13A H 1.4790 -0.1013 0.4147 0.038 Uiso 1 1 calc R . .
 H13B H 1.4098 0.0107 0.4049 0.038 Uiso 1 1 calc R . .
 C14 C 1.2538(7) -0.1097(6) 0.4049(2) 0.0356(19) Uani 1 1 d . . .
 H14A H 1.2425 -0.1785 0.4165 0.043 Uiso 1 1 calc R . .
 H14B H 1.2639 -0.1231 0.3802 0.043 Uiso 1 1 calc R . .
 N15 N 0.6215(5) 0.0371(4) 0.33108(16) 0.0256(14) Uani 1 1 d . . .
 H15 H 0.6768 0.0852 0.3408 0.031 Uiso 1 1 calc R . .

C16 C 0.5183(7) 0.0697(5) 0.30805(18) 0.0213(15) Uani 1 1 d . . .
 O17 O 0.4336(5) 0.0082(3) 0.29260(13) 0.0309(12) Uani 1 1 d . . .
 C18 C 0.5120(6) 0.1890(5) 0.30170(17) 0.0195(15) Uani 1 1 d . . .
 C19 C 0.3923(7) 0.2486(5) 0.31620(19) 0.0252(16) Uani 1 1 d . . .
 C20 C 0.3785(7) 0.3569(5) 0.30904(19) 0.0267(17) Uani 1 1 d . . .
 H20 H 0.2991 0.3957 0.3185 0.032 Uiso 1 1 calc R . .
 C21 C 0.4814(7) 0.4078(5) 0.28805(19) 0.0270(17) Uani 1 1 d . . .
 H21 H 0.4708 0.4808 0.2834 0.032 Uiso 1 1 calc R . .
 C22 C 0.6005(7) 0.3518(5) 0.27375(19) 0.0294(18) Uani 1 1 d . . .
 H22 H 0.6702 0.3865 0.2597 0.035 Uiso 1 1 calc R . .
 C23 C 0.6142(7) 0.2425(5) 0.2807(2) 0.0286(17) Uani 1 1 d . . .

EJEMPLO 3

Determinación de la solubilidad del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

Se investigó la solubilidad del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico del Ejemplo 1 en solución acuosa, en valores de pH en el intervalo de 1 a 11, como se describe en seguida.

Se prepararon soluciones mediante la titulación del ácido clorhídrico estándar con una solución diluida de hidróxido de sodio a un pH deseado. Las soluciones preparadas tuvieron un pH en el intervalo de 1 a 11. Entonces estas soluciones se utilizaron para evaluar la solubilidad del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

En cada experimento, se pesaron 150 miligramos de la sal de metansulfonato en un frasco transparente de 5 mililitros, y se agregaron de 3 a 4 mililitros de una solución a un pH dado. La

mezcla de la solución se agitó entonces durante un promedio de 3 horas a (i) temperatura ambiente, y (ii) 4°C. En cada caso, la solución se filtró entonces a través de un filtro de PVDF de 0.22 micras, se registró el pH de la solución transparente obtenida, y la
5 solución se ensayó para determinar el contenido de sal de metansulfonato utilizando un espectrofotómetro UV-Vis, y soluciones estándares de la sal.

Los datos de solubilidad obtenidos se muestran en las Tablas 3 y 4. Los datos indicaron que la solubilidad depende del pH y de la
10 temperatura. Se obtuvieron las mejores solubilidades entre un pH de 4 y 7. A un pH > 7 y a un pH < 3, se observó precipitación de la sal al reposar a temperatura ambiente, aunque se obtuvo una solubilidad más alta inicialmente.

15 **Tabla 3. Datos de solubilidad de la sal de mesilato**
obtenidos a temperatura ambiente

ID Muestra	pH Inicial	pH Final	Absorbencia a 260 nm	[Sal de mesi-lato] (mg/ml)
1	0.26	0.37	0.2688	15.71
2	1.00	1.06	0.6928	40.29
3	2.51	3.00	0.7731	44.94
4	4.99	6.73	0.7622	44.31
5	7.34	7.30	0.765	44.47

5

6	8.17	7.40	0.7649	44.47
7	7.69	7.90	0.7241	42.10
8	9.04	7.4	0.6089	35.43
9	10.97	7.6	0.5949	34.61
‡10	0.504	0.50	0.2373	13.88

‡ Después de 6 días en el laboratorio, se observó precipitación en la Solución 1. Una vez que se filtró, esta solución se ensayó para determinar el contenido de sal de mesilato, y se registró el pH.

10

Tabla 4. Datos de solubilidad de la sal de mesilato
obtenidos a 4°C

15

20

25

ID Muestra	pH Inicial	pH Final	Absorbencia a 260 nm	[Sal de mesi-lato] (mg/ml)
1	0.26	0.26	0.1724	9.85
2	1.00	1.00	0.7350	39.41
3	2.51	2.51	0.735	41.49
4	4.99	4.99	0.7508	42.39
5	7.34	7.34	0.8124	45.87
6	8.17	8.17	0.7343	43.17
7	7.69	7.69	0.6700	37.87
8	9.04	7.40	0.5372	30.36
9	10.97	7.90	0.5469	30.90

EJEMPLO 4

Determinación de la solubilidad del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en soluciones con el pH regulado

Se llevó a cabo una investigación de la solubilidad de la sal de mesilato del Ejemplo 1 en diferentes sistemas reguladores del pH a temperatura ambiente y a 4°C. En un primer conjunto de experimentos, los reguladores seleccionados fueron succinato 200 mM, pH de 5.5; citrato, pH de 5.5; y Tris/maleato, pH de 5.5, 6.5, y 7.5. Un segundo conjunto de reguladores del pH utilizados incluyó acetato 200 mM, pH de 4.6; glicina/ácido metansulfónico, pH de 4.6; y glicina, pH de 5.5.

Preparaciones reguladoras del pH

Solución reguladora de ácido maleico, tris, hidróxido de sodio

Este regulador se preparó mediante la disolución de 23.62 gramos de ácido maleico y 24.2 gramos de tris-(hidroxi-metil)-amino-metano en 1 litro de agua. Se titularon volúmenes (50 mililitros) de esta solución con una solución de hidróxido de sodio 0.2M hasta el pH objetivo, y se rellenaron hasta 200 mililitros con agua. Se prepararon soluciones de regulador 0.2M a un pH de 5.5, 6.5, y 7.5.

Solución reguladora de ácido succínico, hidróxido de sodio

Este regulador se preparó mediante la disolución de 23.62 gramos de ácido succínico en 1 litro de agua. Se tituló un volumen (50 mililitros) de esta solución con una solución de hidróxido de sodio 0.2M hasta el pH objetivo, y se rellenó hasta 200 mililitros con

agua. Se preparó una solución reguladora 0.2M a un pH de 5.5.

Solución reguladora de ácido cítrico, citrato de sodio

Este regulador se preparó mediante la disolución de 42.02 gramos de ácido cítrico en 1 litro de agua. Se tituló un volumen (50 mililitros) de esta solución con una solución de citrato de tri-sodio (58.82 gramos en 1 litro de agua) hasta el pH objetivo, y se rellenó hasta 200 mililitros con agua. Se preparó una solución reguladora 0.2M a un pH de 5.5.

Regulador de acetato de sodio, ácido acético

Este regulador se preparó mediante la disolución de 4.44 gramos de acetato de sodio en 200 mililitros de agua. Se tituló un volumen (50 mililitros) de esta solución con una solución de ácido acético 0.20M (1.3 mililitros en 200 mililitros de agua), y se rellenó hasta 200 mililitros con agua. Se preparó una solución reguladora de acetato 0.20M a un pH de 4.6.

Solución de glicina

Este regulador se preparó mediante la disolución de 3.01 gramos de glicina en 200 mililitros de agua. Se preparó una solución de glicina 0.20M a un pH de 4.9.

Estudio de solubilidad de la sal de metansulfonato en los reguladores

Con cada pH y sistema regulador, se llevaron a cabo dos experimentos, uno a temperatura ambiente, y uno a 4°C. En cada experimento, a 4.0 mililitros de solución reguladora, se les agregaron 220 miligramos nominales de la sal de mesilato, y la mezcla de la solución se agitó. La agitación se detuvo después de 3 horas, la

solución se filtró a través de un filtro de membrana de PVDF de 0.22 micras, se diluyó en diluyente de muestras, y se ensayó para determinar el contenido de sal de mesilato mediante HPLC. A través de todos los experimentos, se calculó el contenido de sal de mesilato de cada muestra, utilizando calibración de un solo punto cada vez.

Los resultados se muestran en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5. Datos de solubilidad de la sal de mesilato
en el regulador de acetato 200 mM a 4°C

ID Muestra	Regulador utilizado	pH Inicial	pH Final	[Sal de mesi-lato] (mg/ml)
1	Acetato	4.6	4.6	37.16

Tabla 6. Datos de solubilidad de la sal de mesilato
en regulador de acetato 200 mM a temperatura ambiente

ID Muestra	Regulador utilizado	pH Inicial	pH Final	[Sal de mesi-lato] (mg/ml)
1	Acetato	4.6	4.5	30.65

A partir de los resultados, se encontró que la solubilidad de la sal de mesilato está entre 32 y 37 mili-gramos/mililitro en regulador

de acetato. Se llevó a cabo el paso por autoclave a 121°C durante 15 minutos, seguido por el calentamiento de la solución adicionalmente a 40°C, a 55°C, o a 75°C durante 10 a 12 días, sobre la solución de sal regulada con acetato. Se encontró que el pH de la solución y el metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico son estables bajo estas condiciones de prueba. Las pruebas de estabilidad en congelación-descongelación sobre la solución de sal regulada con acetato, no dieron como resultado la precipitación de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o su sal, y se encontró que el pH de la solución y el metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico son estables bajo estas condiciones de prueba.

EJEMPLO 5

Determinación de la estabilidad del metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

Las muestras de la sal de metansulfonato del Ejemplo 1 se almacenaron en bolsas selladas adentro de un contenedor sellado, a una temperatura de 40°C y en una atmósfera del 75 por ciento de humedad relativa durante un período de seis meses. En períodos de 1 mes, 3 meses, y 6 meses, se llevaron a cabo diferentes pruebas para determinar si habían ocurrido cambios a la pureza o al estado físico de la sal. Estas pruebas fueron como sigue:

- (a) Examen visual del color y la apariencia física de la sal.

(b) Espectroscopía Infrarroja de Transformación Fourier (FTIR) - comparación con el espectro estándar de referencia.

(c) Determinación del punto de fusión mediante calorimetría de exploración diferencial (DSC).

5 (d) Determinación del contenido de agua mediante un método colorimétrico utilizando el reactivo colorimétrico AKX.

(e) Análisis de impurezas mediante HPLC.

Los resultados de las pruebas se estipulan en la Tabla 7. Como se puede ver, el color y la apariencia de la sal permanecieron sin cambios durante seis meses (prueba (a)), y el espectro infrarrojo (prueba (b)) no mostró cambios durante este período. En la prueba (c), no hubo reducción en el punto de fusión, indicando de esta manera que no se estaba presentando degradación de la sal, y esto fue apoyado por los análisis de HPLC, los cuales mostraron que 10 ninguna de las impurezas presentes en la muestra en el tiempo cero había aumentado en concentración durante el período de la prueba.

15 Por consiguiente, las pruebas de estabilidad demostraron que la sal de metansulfonato tiene una buena estabilidad durante un período prolongado.

20 **EJEMPLO 6**

Estudios de Difracción en Polvo de Rayos-X sobre la sal de ácido metansulfónico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

25 El análisis de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) de la sal de mesilato, como se preparó en el Ejemplo 1, se llevó a cabo en un

difractómetro Bruker D500 equipado con una plataforma giratoria y una plataforma de temperatura variable. La fuente de radiación fue un tubo de cobre sellado (radiación de Cu K α : 1.5406 Å), y el voltaje y la corriente se establecieron a 40 kV y 40 mA. El detector utilizado fue un contador de cintilación. Los análisis de difracción en polvo de rayos-X se llevaron a cabo utilizando el software Diffrac Plus XRD Commander v2.3.1.

Las muestras se prepararon mediante una ligera presión de una muestra de aproximadamente 10 miligramos de la sal en el contenedor de muestras, y luego se suavizó ligeramente para obtener una superficie plana.

Se recopilaron difractogramas sobre el intervalo de 3° a 40°, 2-Teta, con un tamaño de paso de 0.001° y un tiempo de paso de 1 segundo.

En la Figura 3 se muestra un difractograma de la sal de mesilato.

Tabla 7. Resumen de resultados analíticos para la prueba de estabilidad de la sal de metansulfonato a 40°C/75% de humedad relativa

5			t = 0	t = 1 mes
		Fecha de Inicio	15 Oct 04	16 Nov 04
		Período de análisis	15-25 Oct 04	16-18 Nov 04
10	Pruebas de estabilidad	Especificación		
	(a) Descripción	Por reportarse	Sólido grisáceo	Sólido grisáceo
15	(b) Identificación mediante FTIR	Se conforma con el espectro estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)	Se conforma con el espectro estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)	Se conforma con el espectro estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)
20	(c) Punto de fusión mediante DSC	Por reportarse (40→450°C a 10°C/ min, bandeja de alta presión)	Endoterma de fusión 367.7°C	Endoterma de fusión 368.3°C
25	(d) Contenido de agua	(Reactivo AKX)	<0.1 % peso/peso	<0.1 % peso/peso

5	(e) Impurezas (mediante HPLC)	Por reportarse	0.52 % área	0.49 % área
	Impurezas		0.07 % área	0.07 % área
	totales		0.01 % área	0.02 % área
	RRT 0.812		0.02 % área	nd
	RRT 1.196		0.02 % área	0.06 % área
	RRT 1.226		0.03 % área	nd
	RRT 1.303		0.15 % área	0.17 % área
	RRT 1.318		0.03 % área	nd
	RRT 1.484		0.19 % área	0.17 % área
	RRT 1.526		nd	nd
	RRT 1.680			
	RRT 1.682			
15	Pureza química	Por reportarse	99.48 % área	99.51 % área

20			t = 3	t = 6 meses
		Fecha de Inicio	14 Ene 05	15 Abr 05
		Período de análisis	14-19 Ene 05	15 Abr 05
	Pruebas de estabilidad			
	(a) Descripción	Por reportarse	Sólido grisáceo	Sólido grisáceo
	(b)	Se conforma	Se conforma	Se conforma
25	Identificación	con el espectro	con el espectro	con el espectro

5	mediante FTIR	estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)	estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)	estándar de referencia AS76/ R/001 (UATR, 4000-650 cm ⁻¹)
10	(c) Punto de fusión mediante DSC	Por reportarse (40→450°C a 10°C/ min, bandeja de alta presión)	Endoterma de fusión 375.5°C	Endoterma de fusión 369.1°C
	(d) Contenido de agua	(Reactivo AKX)	<0.1 % peso/peso	<0.1 % peso/peso
15	(e) Impurezas (mediante HPLC)	Por reportarse	0.50 % área	0.50 % área
	Impurezas totales		0.06 % área nd	0.06 % área nd
	RRT 0.812		0.02 % área	0.02 % área
	RRT 1.196		nd	nd
20	RRT 1.226		0.04 % área	0.04 % área
	RRT 1.303		0.17 % área	0.17 % área
	RRT 1.318		0.04 % área	0.03 % área
	RRT 1.484		0.17 % área	0.17 % área
	RRT 1.526		nd	0.01 % área
25	RRT 1.680			

RRT 1.682			
Pureza química	Por reportarse	99.50 % área	99.50 % área

Clave para la tabla

nd = no detectado

5

EJEMPLO 7

Estudios sobre el efecto de variar la humedad relativa sobre la sal de ácido metansulfónico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

10 (i) Se llevaron a cabo estudios de Sorción de Vapor Gravimétrica (GVS) para investigar el comportamiento de la sal de mesilato en condiciones de humedad variable. La sal de mesilato utilizada en los estudios se preparó a partir de la sal de clorhidrato (ver el Ejemplo 11) mediante el siguiente método.

15 La sal de clorhidrato se recuperó en MeOH, y se pasó a través de una columna Strata-NH₂, eluyendo con MeOH. Las fracciones conteniendo al producto se redujeron al vacío para dar la base libre de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico. A una mezcla de la base libre en MeOH, se le
20 agregó MsOH (al 70 por ciento en agua), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas, y luego se redujo al vacío, destilando azeotrópicamente con tolueno (3 veces). El residuo se purificó mediante trituración con acetona, y se secó en el horno al vacío, para dar la sal de mesilato.

25 Las muestras de la sal de mesilato producida mediante el

método descrito anteriormente se probaron en un analizador de
sorción de humedad Hiden IGASorp ejecutando el software CFRSorp.
Los tamaños de las muestras fueron típicamente de 10 miligramos.
Las isotermas de adsorción-desorción de humedad se llevaron a
cabo como se estipula en la siguiente tabla:

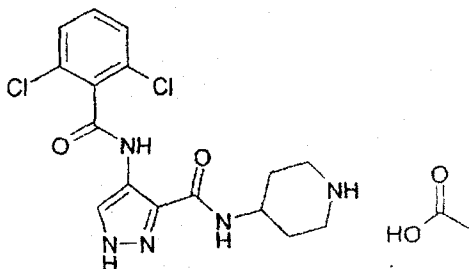
Adsorción	Desorción
40	85
50	75
60	65
70	45
80	35
90	25
	15
	5
	0
	10
	20
	30

Se ejecutó un ciclo doble utilizando una muestra de 12.92
miligramos de la sal de mesilato. La isoterma de GVS resultante
demostró que la sal tenía su pico a aproximada-mente el 4 por ciento
en peso de agua sobre el intervalo del 0 por ciento de humedad
relativa al 90 por ciento de humedad relativa. Sin embargo, en el

entendido de que la sal no se exponga a humedades relativas mayores que el 80 por ciento, la recuperación de agua es menor del 2.6 por ciento en peso/ peso. Es importante que el agua que se recuperó durante la etapa de adsorción se perdió durante la etapa de desorción, indicando que la recuperación de agua es un efecto superficial.

(ii) En una prueba separada, aproximadamente 10 miligramos de la sal de mesilato preparada anteriormente, se aplanaron sobre un portaobjetos de vidrio para alcanzar una alta área superficial, y se colocaron en un desecador que contenía una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. A su vez, ésta se colocó en una incubadora mantenida a 40°C, para proporcionar una atmósfera de aproximadamente el 75 por ciento de humedad relativa. La muestra se removi6 a los 8 y 18 días, y se compararon los perfiles de difracción en polvo de rayos-X de la muestra en estos tiempos, con el perfil de difracción en polvo de rayos-X de la sal antes del comienzo de la prueba. No se observaron cambios en los perfiles de difracción en polvo de rayos-X. El análisis de HPLC indic6 que no se presentó degradación alguna de la sal durante la prueba.

Las pruebas (i) y (ii) anteriores ilustran que, aunque la sal de mesilato recupera algo de agua cuando se expone a condiciones de alta humedad, el agua recuperada se pierde como las gotas de humedad relativa, y no hay cambio alguno en la estructura del cristal de la sal. Por consiguiente, la sal de mesilato es una sal anhidra estable.

EJEMPLO 8**Preparación de la sal de ácido acético de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico**

5
10
15
A una solución de la sal de clorhidrato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (20.6 gramos, 50 milimoles) en agua (500 mililitros) en agitación a temperatura ambiente, se le agregó bicarbonato de sodio (4.5 gramos, 53.5 milimoles). La mezcla se agitó durante 1 hora, y el sólido formado se recolectó mediante filtración, y se secó al vacío destilándose azeotrópicamente con tolueno (3 veces), para dar la base libre correspondiente de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.20 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.25 (d, 1H), 7.60 - 7.50 (m, 3H), 3.70 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.50 (m, 2H),
20 1.70 (d, 2H), 1.70 (d, 2H), 1.50 (m, 2H).

A una suspensión agitada de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (10.0 gramos, 26.2 milimoles) en metanol (150 mililitros), se le agregó ácido acético glacial (15 mililitros, 262 milimoles) a temperatura ambiente.
25 Después de 1 hora, se obtuvo una solución transparente, la cual se

redujo al vacío destilando azeotrópicamente con tolueno (2 veces). Luego el residuo se trituró con acetonitrilo (100 mililitros, 2 veces), y el sólido se secó al vacío, para dar la sal de ácido acético de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (10.3 gramos) como un sólido blanco.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.20 (s, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.60 - 7.50 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 3.00 (d, 2H), 2.60 (t, 2H), 1.85 (s, 3H), 1.70 (d, 2H), 1.55 (m, 2H).

EJEMPLO 9

10 Estudios de Calorimetría de Exploración Diferencial sobre la sal de ácido acético de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

La sal de acetato del Ejemplo 8 se sometió a estudios de calorimetría de exploración diferencial utilizando un instrumento TA Q1000 equipado con un auto-muestreador de 50 posiciones. Se utilizó indio como un estándar de calibración de energía y temperatura.

Las muestras se calentaron a una velocidad de 10°C/minuto entre 10°C y 230°C. Se mantuvo una purga de nitrógeno a 30 mililitros/minuto sobre la muestra. Se utilizaron tamaños de muestras de entre 1 miligramo y 3 mili-gramos, y todas las muestras se sujetaron en una bandeja herméticamente sellada. En la Figura 5 se estipula una exploración de calorimetría de exploración diferencial de la sal de acetato. El trazo de la calorimetría de exploración diferencial muestra un evento a 231.5°C, el cual se atribuye a la

pérdida de ácido acético y a la conversión subsecuente hasta la base libre. Sobre un calentamiento adicional, la forma sólida se descompone/se funde a 292.9°C.

EJEMPLO 10

Estudios de Difracción en Polvo de Rayos-X sobre la sal de ácido acético de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

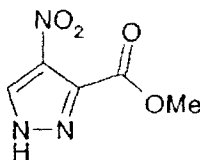
Se llevó a cabo un análisis de difracción en polvo de rayos-X (XRPD) de la sal de acetato del Ejemplo 8, en un difractómetro Bruker D500, de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 6.

En la Figura 4 se muestra un difractograma de la sal de acetato.

EJEMPLO 11

Preparación de clorhidrato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-diclorobenzoilamino)-1H-pirazol-3-carboxílico

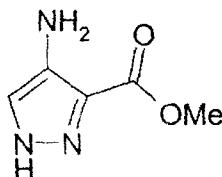
11A. Síntesis del metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico



Se agrega lentamente cloruro de tionilo (2.90 mili-litros, 39.8 milimoles), a una mezcla de ácido 4-nitro-3-pirazol-carboxílico (5.68 gramos, 36.2 milimoles) en metanol (100 mililitros), a temperatura ambiente, y la mezcla se agita durante 48 horas. La mezcla se reduce al vacío, y se seca mediante destilación azeotrópica con

tolueno, para proporcionar el metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico.

11B. Síntesis del metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-3-carboxílico



Una mezcla del metil-éster del ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico (34.6 milimoles) y Pd al 10 por ciento/C (650 miligramos) en EtOH (150 mililitros), se agita bajo una atmósfera de hidrógeno durante 20 horas. La mezcla se filtra a través de un tapón de Celite, se reduce al vacío, y se seca mediante destilación azeotrópica con tolueno, para proporcionar el metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-3-carboxílico.

11C. Ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

Se agregó cloruro de 2,6-dicloro-benzoílo (8.2 gramos; 39.05 milimoles) con precaución, a una solución del metil-éster del ácido 4-amino-1H-pirazol-3-carboxílico (5 gramos; 35.5 milimoles) y trietilamina (5.95 mililitros; 42.6 milimoles) en dioxano (50 mililitros), y luego se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se trató con metanol (50 mililitros) y una solución de hidróxido de sodio 2M (100 mililitros), se calentó a 50°C durante 4 horas, y luego se evaporó. Se agregaron 100 mililitros de agua al residuo, y luego se acidificó con ácido clorhídrico concentrado. El sólido se recolectó mediante filtración, se

lavó con agua (100 mili-litros), y se succionó para secarse con el fin de dar 10.05 gramos del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como un sólido color violeta pálido.

11D. Terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino}-piperidin-1-carboxílico

Una mezcla del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico (6.5 gramos, 21.6 milimoles), 4-amino-1-BOC-piperidina (4.76 gramos, 23.8 milimoles), EDC (5.0 gramos, 25.9 milimoles), y HOBT (3.5 gramos, 25.9 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (75 mililitros), se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se redujo al vacío, y el residuo se dividió entre acetato de etilo (100 mililitros) y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 mililitros). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), y se redujo al vacío. El residuo se recuperó en MeOH al 5 por ciento-DCM (aproximadamente 30 mililitros). El material insoluble se recolectó mediante filtración, se lavó con diclorometano, y se secó al vacío para dar el terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino}-piperidin-1-carboxílico (5.38 gramos) como un sólido blanco. El filtrado se redujo al vacío, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna utilizando una elución en gradiente de 1:2 de EtOAc/hexano hasta EtOAc, para dar el terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino}-piperidin-1-carboxílico (2.54 gramos), como un sólido blanco.

11E. piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-

pirazol-3-carboxílico

Una solución del terbutil-éster del ácido 4-[[4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carbonil]-amino]-piperidin-1-carboxílico (7.9 gramos) en MeOH (50 mililitros) y EtOAc (50 mililitros), se trató con HCl saturado-EtOAc (40 mililitros), y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto no se cristalizó debido a la presencia de metanol, y por consiguiente, la mezcla de reacción se evaporó, y el residuo se trituroó con EtOAc. El sólido grisáceo resultante se recolectó mediante filtración, se lavó con EtOAc, y se succionó para secarse sobre el sinterizador, para dar 6.3 gramos de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como la sal de clorhidrato. (LC/MS: R_t 5.89, $[M + H]^+$ 382 / 384).

ACTIVIDAD BIOLÓGICAEJEMPLO 12Medición de CDK2 Activada/Ensayo de Actividad Inhibidora de Cinasa de Ciclina A (IC_{50})

Se puede determinar la actividad inhibidora de cinasa CDK2, empleando el siguiente protocolo.

La CDK2 activada/ciclina A (Brown y colaboradores, *Nat. Cell Biol.*, 1, páginas 438-443, 1999; Lowe, E.D. y colaboradores, *Biochemistry*, 41, páginas 15625-15634, 2002) se diluye hasta 125pM en regulador de ensayo con una concentración de 2.5X (MOPS 50 mM, pH de 7.2, β -glicerofosfato 62.5 mM, EDTA 12.5 mM, $MgCl_2$ 37.5 mM, ATP 112.5 mM, DTT 2.5 mM, ortovanadato de sodio 2.5 mM,

0.25 miligramos/mililitro de albúmina de suero bovino), y 10 microlitros mezclados con 10 microlitros de mezcla de sustrato de histona (60 microlitros de histona bovina H1 (Upstate Biotechnology, 5 miligramos/mililitro), 940 microlitros de H₂O, 35 μ Ci γ^{33} P-ATP), y se
5 agregan a placas de 96 pozos junto con 5 microlitros de diferentes diluciones del compuesto de prueba en sulfóxido de dimetilo (hasta el 2.5 por ciento). La reacción se deja proceder durante 2 a 4 horas antes de detenerse con un exceso de ácido ortofosfórico (5 microlitros al 2 por ciento). El γ^{33} P-ATP que queda sin incorporarse
10 en la histona H1, se separa de la histona H1 fosforilada sobre una placa de filtro Millipore MAPH. Los pozos de la placa MAPH se humedecen con ácido ortofosfórico al 0.5 por ciento, y luego se filtran los resultados de la reacción con una unidad de filtración al vacío Millipore a través de los pozos. En seguida de la filtración, el
15 residuo se lava dos veces con 200 microlitros de ácido ortofosfórico al 0.5 por ciento. Una vez que se secan los filtros, se agregan 20 microlitros de cintilador Microscint 20, y entonces se cuentan en un Packard TopCount durante 30 segundos.

Se calcula el porcentaje de inhibición de la actividad de CDK2, y se grafica con el objeto de determinar la concentración del
20 compuesto de prueba requerida para inhibir el 50 por ciento de la actividad de CDK2 (IC₅₀).

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un valor de IC₅₀ menor
25 a 0.1 μ M en el ensayo de CDK2 anterior.

EJEMPLO 13**Medición de CDK1 Activada/Ensayo de Actividad Inhibidora de Cinasa de Ciclina B (IC₅₀)**

El ensayo de CDK1/ciclina B es idéntico al de CDK2/ciclina A anterior, excepto que se utiliza CDK1/ciclina B (Upstate Discovery), y la enzima se diluye hasta 6.25 nM.

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un valor de IC₅₀ menor a 0.1 μ M en el ensayo de CDK1 anterior.

EJEMPLO 14**Ensayo de la Actividad Inhibidora de Cinasa GSK3- β**

La GSK3- β (Upstate Discovery) se diluye hasta 7.5 nM en MOPS 25 mM, pH de 7.00, 25 miligramos/mililitro de albúmina de suero bovino, Brij-35 al 0.0025 por ciento, glicerol al 1.25 por ciento, EDTA 0.5 mM, MgCl₂ 25 mM, β -mercaptoetanol al 0.025 por ciento, ATP 37.5 mM, y 10 microlitros mezclados con 10 microlitros de mezcla de sustrato. La mezcla de sustrato para GSK3- β es de péptido-2 de sintasa de fosfo-glicógeno (Upstate Discovery) en 1 mililitro de agua con 35 μ Ci y ³³P-ATP. La enzima y el sustrato se agregan a placas de 96 pozos, junto con 5 microlitros de diferentes diluciones del compuesto de prueba en sulfóxido de dimetilo (hasta el 2.5 por ciento). La reacción se deja proceder durante 3 horas (GSK3- β) antes de detenerse con un exceso de ácido orto-fosfórico (5 microlitros al 2 por ciento). El procedimiento de filtración es como para el ensayo de CDK2 activada/ciclina A anterior.

El compuesto de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un valor de IC_{50} menor a 0.1 μM en el ensayo de GSK3- β anterior.

EJEMPLO 15

Actividad Anti-proliferativa

Las actividades anti-proliferativas de un compuesto se pueden determinar midiendo la capacidad del compuesto para inhibir el crecimiento celular en un número de líneas celulares. La inhibición del crecimiento celular se mide utilizando el ensayo Alamar Blue (Nociari, M. M. Shalev, A., Bernias, P., Russo, C. *Journal of Immunological Methods* 1998, 213, 157-167). El método se basa en la capacidad de las células viables para reducir la resazurina hasta su producto fluorescente de resorufina. Para cada ensayo de proliferación, las células se aplican a placas de 96 pozos, y se dejan recuperarse durante 16 horas antes de la adición de los compuestos inhibidores durante 72 horas adicionales. Al final del período de incubación, se agrega Alamar Blue al 10 por ciento (volumen/volumen), y se incuba durante 6 horas adicionales antes de la determinación del producto fluorescente a 535 nanómetros de excitación/590 nanómetros de emisión. En el caso del ensayo de células no proliferativas, las células se mantienen en una confluencia durante 96 horas antes de la adición de los compuestos inhibidores durante 72 horas adicionales. El número de células viables se determina mediante el ensayo de Alamar Blue como antes. Las líneas celulares se pueden obtener en ECACC (European Collection

of Cell Cultures (Colección Europea de Cultivos Celulares)).

Empleando este ensayo, se ha encontrado que la sal de ácido metansulfónico de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico tiene un valor de IC_{50} de 0.11 en células HCT-116.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

EJEMPLO 16

(I) Formulación de Tableta

Se prepara una composición de tableta que contiene un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una sal de adición de ácido del mismo como se define en la presente, mezclando 50 miligramos del compuesto o su sal con 197 miligramos de lactosa (BP) como diluyente, y 3 miligramos de estearato de magnesio como lubricante, y se comprime para formar una tableta de una manera conocida.

(ii) Formulación de Cápsula

Se prepara una formulación de cápsula mezclando 100 miligramos de un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una sal de adición de ácido del mismo como se define en la presente, con 100 miligramos de lactosa, y llenando con la mezcla resultante cápsulas de gelatina dura opacas estándares.

(iii) Formulación Inyectable I

Se puede preparar una composición parenteral para administrarse mediante inyección, mediante la disolución de un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) (por ejemplo, en una forma de sal) en agua conteniendo propilenglicol al 10 por ciento, para dar una

concentración del compuesto activo del 1.5 por ciento en peso. Luego la solución se esteriliza mediante filtración, se llena en una ampolleta, y se sella.

(iv) Formulación Inyectable II

5 Se prepara una composición parenteral para inyección disolviendo en agua un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) (por ejemplo, en forma de sal) (2 miligramos/ mililitro) y manitol (50 miligramos/mililitro), se filtra estéril la solución, y se llena en frascos o ampolletas sellables de 1 mililitro.

(v) Formulación Inyectable III

10 Se puede preparar una formulación para el suministro por inyección o infusión intravenosa, disolviendo el compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) (por ejemplo, en una forma de sal) en agua a 20 miligramos/mililitro. Luego se sella el frasco y se esteriliza mediante
15 su paso por autoclave.

(vi) Formulación Inyectable IV

Se puede preparar una formulación para el suministro por inyección o infusión intravenosa, disolviendo el compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) (por ejemplo, en una forma de sal) en agua
20 conteniendo un regulador (por ejemplo, acetato 0.2 M, pH de 4.6) a 20 miligramos/mililitro. Luego se sella el frasco y se esteriliza mediante su paso por autoclave.

(vii) Formulación de Inyección Subcutánea

Se prepara una composición para la administración
25 subcutánea, mezclando un compuesto de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una

sal de adición de ácido del mismo como se define en la presente, con aceite de maíz de grado farmacéutico, para dar una concentración de 5 miligramos/mililitro. La composición se esteriliza y se llena en un recipiente adecuado.

5 **(viii) Formulación Liofilizada**

Se ponen alícuotas del compuesto formulado de la Fórmula (I⁰) ó (I) ó una sal de adición de ácido del mismo como se define en la presente, en frascos de 50 mililitros, y se liofilizan. Durante la liofilización, las composiciones se congelan utilizando un protocolo
10 de congelación de un paso a (-45°C). La temperatura se eleva hasta -10°C para el templado, luego se baja hasta la congelación a -45°C, seguido por un secado primario a +25°C durante aproximadamente 3,400 minutos, seguido por un secado secundario con pasos incrementados de la temperatura hasta 50°C. La presión durante el
15 secado primario y secundario se establece en 80 militor.

(ix) Concentrado para utilizarse en la administración intravenosa

Se prepara una solución acuosa con el pH regulado mediante la disolución de metansulfonato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, en una
20 concentración de 20 miligramos/mililitro en un regulador 0.2M de acetato de sodio/ácido acético a un pH de 4.6.

La solución regulada se rellena, con filtración para remover la materia en partículas, en un recipiente (tal como frascos de vidrio clase 1), el cual luego se sella (por ejemplo, por medio de un tapón Florotec) y se asegura (por ejemplo, con un rizo de aluminio). Si el
25

compuesto y la formulación son suficientemente estables, la formulación se esteriliza mediante su paso por autoclave a 121°C durante un período de tiempo adecuado. Si la formulación no es estable al paso por autoclave, se puede esterilizar utilizando un filtro adecuado, y se rellena bajo condiciones estériles en frascos estériles. Para la administración intravenosa, la solución se puede dosificar como esté, o se puede inyectar en una bolsa para infusión (que contenga un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como suero al 0.9 por ciento o dextrosa al 5 por ciento), antes de su administración).

EJEMPLO 17

Determinación de la Actividad Antifúngica

Se puede determinar la actividad antifúngica de una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, empleando el siguiente protocolo.

Las sales se prueban contra un panel de hongos, incluyendo *Candida parpsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans*-ATCC 36082, y *Cryptococcus neoformans*. Los organismos de prueba se mantienen sobre placas de ágar-dextrosa Sabourahd a 4°C. Se preparan suspensiones individuales de cada organismo, cultivando la levadura durante la noche a 27°C sobre un tambor giratorio, en un caldo base de levadura-nitrógeno (YNB) con aminoácidos (Difco, Detroit, Mich.), pH de 7.0, con ácido morfolin-propansulfónico 0.05 M (MOPS). Luego la suspensión se centrifuga y se lava dos veces con NaCl al 0.85 por ciento antes de sonicar la suspensión celular lavada

durante 4 segundos (Sonicador Branson, modelo 350, Danbury, Conn.). Se cuentan las blastoesporas individuales en un hemocitómetro, y se ajustan hasta la concentración deseada en NaCl al 0.85 por ciento.

5 La actividad de los compuestos de prueba se determina utilizando una modificación de una técnica de microdilución de caldo. Los compuestos de prueba se diluyen en sulfóxido de dimetilo hasta una proporción de 1.0 miligramos/mililitro, luego se diluyen hasta 64 microgramos/mililitro en caldo YNB, pH de 7.0, con MOPS (se utiliza
10 fluconazol como el control), para proporcionar una solución de trabajo de cada compuesto. Utilizando una placa de 96 pozos, se preparan los pozos 1 y 3 a 12 con caldo YNB, se hacen diluciones de 10 veces de la solución del compuesto en los pozos 2 a 11 (los intervalos de concentración son de 64 a 0.125 microgramos/mililitro).
15 El pozo 1 sirve como un control de esterilidad y en blanco para los ensayos espectrofotométricos. El pozo 12 sirve como un control de crecimiento. Las placas de microtitulación se inoculan con 10 microlitros en cada uno de los pozos 2 a 11 (el tamaño de inóculo final es de 10^4 organismos/mililitro). Las placas inoculadas se
20 incuban durante 48 horas a 35°C. Los valores IC_{50} se determinan espectrofotométricamente midiendo la absorbencia a 420 nanómetros (Lector de Microplacas Automático, DuPont Instruments, Wilmington, Del.) después de la agitación de las placas durante 2 minutos con una mezcladora de vórtex (Mezcladora Vorte-Genie 2, Scientific
25 Industries, Inc., Bolemia, N.Y.). El punto final de la IC_{50} se define

como la concentración más baja de fármaco que exhibe una reducción de aproximadamente el 50 por ciento (o más) del crecimiento, comparándose con el pozo de control. Con el ensayo de turbidez, esto se define como la concentración más baja de fármaco en la cual la turbidez en el pozo es <50 por ciento del control (IC_{50}). Las Concentraciones Citolíticas Mínimas (MCC) se determinan subcultivando todos los pozos de la placa de 96 pozos sobre una placa de Agar-Dextrosa Sabourahd (SDA), incubando durante 1 a 2 días a 35°C, y luego verificando la viabilidad.

EJEMPLO 18

Protocolo para la Evaluación Biológica del Control de Infección Fúngica de Planta Entera *in vivo*

Una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico se disuelve en acetona, con diluciones en serie subsecuentes en acetona, para obtener un rango de concentraciones deseadas. Los volúmenes de tratamiento finales se obtienen agregando 9 volúmenes de Tween-20^{MR} acuoso al 0.05 por ciento, o Triton X-100^{MR} al 0.01 por ciento, dependiendo del patógeno.

Luego se utilizan las composiciones para probar la actividad de los compuestos de la invención contra el añublo de jitomate (*Phytophthora infestans*) utilizando el siguiente protocolo. Se cultivan jitomates (cultivo Rutgers) a partir de semillas en una mezcla para macetas basadas en turba sin tierra, hasta que las plántulas sean de 10 a 20 centímetros de alto. Luego las plantas se rocían hasta

escurrir con el compuesto de prueba, a un índice de 100 partes por millón. Después de 24 horas, las plantas de prueba se inoculan rociándolas con una suspensión acuosa de esporangios de *Phytophthora infestans*, y se mantienen en una cámara de rocío durante la noche. Entonces las placas se transfieren al invernadero hasta que se desarrolla la enfermedad en las plantas de control no tratadas.

También se emplean protocolos similares para probar la actividad de los compuestos de la invención para combatir el óxido café del trigo (*Puccinia*), el moho polvoso de trigo (*Erysiphe graminis*), trigo (cultivo Monon), añublo de hoja de trigo (*Septoria tritici*), y mancha Glume de trigo (*Leptosphaeria nodorum*).

EJEMPLO 19

Protocolo general para la determinación de las solubilidades de la base libre y las sales de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico

Se pueden determinar las solubilidades de diferentes sales de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico por medio del siguiente protocolo.

Procedimiento

A un frasco de 8 mililitros se le agrega la base libre (50 miligramos, 0.131 milimoles) y agua (0.5 mililitros). Al frasco se le agrega el ácido apropiado (1 equivalente, 0.131 milimoles), y el frasco se agita a temperatura ambiente durante 14 a 16 horas. Después de este tiempo, los frascos se inspeccionan visualmente. Si

se observa una solución homogénea, entonces se termina el experimento, y se puede concluir que la sal así formada tiene una solubilidad mayor que 100 miligramos/mililitro.

Si queda un sólido, entonces se agregan 0.5 mili-litros adicionales de agua, y el frasco se agita durante 6 horas. Si se forma una solución homogénea en esta etapa, se puede concluir que la sal tiene una solubilidad mayor que 50 miligramos/mililitro.

Si queda un sólido en este punto, entonces se agrega 1 mililitro adicional de agua, y el frasco se agita a temperatura ambiente. Si esto da como resultado una solución homogénea, entonces se puede concluir que la solubilidad es mayor que 25 miligramos/mililitro. Si todavía queda un sólido, se puede concluir que la solubilidad de la sal es menor que 25 miligramos/mililitro.

Las formas de sal de la invención exhiben una o más de las siguientes ventajas sobre la base libre, en que:

- serán más solubles, y por consiguiente, serán mejores para su administración intravenosa (por ejemplo, mediante infusión);
- tendrán una mejor estabilidad (por ejemplo, una mejor vida de anaquel);
- tendrán una mejor estabilidad térmica;
- serán menos básicas y, por consiguiente, serán mejores para la administración intravenosa;
- tendrán ventajas para la producción;
- tendrán una mejor solubilidad en una solución acuosa;
- tendrán mejores propiedades fisicoquímicas;

- pueden tener una mejor actividad contra el cáncer; y
- pueden tener un mejor índice terapéutico.

Equivalentes

Los ejemplos anteriores se presentan para el propósito de
5 ilustrar la invención, y no debe interpretarse que impongan cualquier
limitación sobre el alcance de la invención. Será fácilmente aparente
que se pueden hacer numerosas modificaciones y alteraciones a las
modalidades específicas de la invención descrita anteriormente e
ilustrada en los ejemplos, sin apartarse de los principios subyacentes
10 a la invención. Se pretende que todas esas modificaciones y
alteraciones sean abarcadas por esta solicitud.

15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, formándose la sal con un ácido seleccionado a partir de ácido metansulfónico y ácido acético, y mezclas de los mismos.

2. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 1, la cual es una sal de adición de ácido formada con ácido metansulfónico.

3. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 1, la cual es una sal de adición de ácido formada con ácido acético.

4. Una sal de adición de ácido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual es cristalina.

5. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 2, la cual es cristalina, y:

(a) tiene una estructura de cristal como se estipula en las Figuras 1 y 2; y/o

(b) tiene una estructura de cristal como se define por las coordenadas del Ejemplo 2 de la presente; y/o

(c) tiene parámetros de la celosía del cristal en 93 K $a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$; y/o

(d) tiene una estructura de cristal que pertenece a un grupo de espacio orto-rómbico, tal como $Pbca$ (# 61).

6. Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del

ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, siendo la sal diferente de una sal de clorhidrato.

7. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 6, la cual es una sal formada con un ácido seleccionado a partir del grupo que consiste en los ácidos acético, 5 adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), aspártico (por ejemplo, L-aspártico), bencensulfónico, benzoico, canfórico (por ejemplo, (+)-canfórico), cáprico, caprílico, carbónico, cítrico, ciclámico, dodecanoato, dodecilsulfúrico, etan-1,2-disulfónico, 10 etansulfónico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), α -oxo-glutárico, glicólico, hipúrico, isetiónico, isobutírico, láctico (por ejemplo, (+)-L-láctico y ($\pm$)-DL-láctico), lactobiónico, laurilsulfónico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, 15 metansulfónico, mícico, naftalensulfónico (por ejemplo, naftalen-2-sulfónico), naftalen-1,5-disulfónico, nicotínico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tartárico (por ejemplo, (+)-L-tartárico), tiociánico, toluensulfónico (por ejemplo, p-toluensulfónico), valérico, 20 y xinafoico.

8. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 6 o con la reivindicación 7, la cual es cristalina.

9. Una sal de adición de ácido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, la cual es amorfa.

10. Una sal de adición de ácido de acuerdo con cualquiera de 25

las reivindicaciones anteriores, la cual es anhidra.

11. Una sal de ácido metansulfónico sustancialmente cristalina de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, que tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X caracterizado por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ) y espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla A, y opcionalmente en la Tabla B; por ejemplo, en donde el patrón de difracción en polvo de rayos-X se caracteriza por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ), espacios interplanares (d), e intensidades estipulados en la Tabla C de la presente.

12. Una sal de ácido metansulfónico sustancialmente cristalina de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con la reivindicación 11, la cual exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 3, y de preferencia en donde los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 3.

13. Una sal de ácido metansulfónico sustancialmente cristalina de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con la reivindicación 12, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente como se muestra en la Figura 3.

14. Una sal de ácido acético sustancialmente cristalina de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-

pirazol-3-carboxílico, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X que exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 4.

5 15. Una sal de ácido acético sustancialmente cristalina de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con la reivindicación 14, en donde los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 4.

10 16. Una sal de ácido acético sustancialmente cristalina de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con la reivindicación 15, la cual tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente como se muestra en la Figura 4.

15 17. Una sal de mesilato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual es anhidra y exhibe un pico endotérmico a 379-380°C, por ejemplo a 379.8°C, cuando se somete a calorimetría de exploración diferencial.

20 18. Una sal de ácido acético de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual es anhidra y exhibe picos exotérmicos a 231-232°C (por ejemplo 232.50°C) y 292-293°C (por ejemplo 292.88°C) cuando se somete a calorimetría
25 de exploración diferencial.

19. Una sal de adición de ácido sustancialmente cristalina (por ejemplo, una sal de mesilato o acetato, como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, la cual contiene una sola forma cristalina de la sal de adición de ácido, y no más del 5 por ciento en peso de cualesquiera otras formas cristalinas de la sal de adición de ácido.

20. Una sal de adición de ácido sustancialmente cristalina, en donde la única forma cristalina está acompañada por menos del 4 por ciento, o menos del 3 por ciento, o menos del 2 por ciento de otras formas cristalinas, y en particular contiene menos o igual a aproximadamente el 1 por ciento en peso de otras formas cristalinas.

21. Una sal de adición de ácido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual es sustancialmente cristalina, y en donde los cristales de las sales de adición de ácido (por ejemplo, las sales de metan-sulfonato o acetato) de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, son cristales que contienen menos del 10 por ciento en peso de solvente residual (por ejemplo, agua o un solvente orgánico), por ejemplo, menos del 5 por ciento de solvente residual, por ejemplo, menos del 4 por ciento, o menos del 3 por ciento, o menos del 2 por ciento, o menos del 1 por ciento, o menos del 0.5 por ciento de solvente.

22. Una sal de adición de ácido de acuerdo con la reivindicación 21, en donde la única forma cristalina está

acompañada por menos del 0.9 por ciento, o menos del 0.8 por ciento, o menos del 0.7 por ciento, o menos del 0.6 por ciento, o menos del 0.5 por ciento, o menos del 0.4 por ciento, o menos del 0.3 por ciento, o menos del 0.2 por ciento, o menos del 0.1 por ciento, o menos del 0.05 por ciento, o menos del 0.01 por ciento en peso de otras formas cristalinas, por ejemplo, el 0 por ciento en peso de otras formas cristalinas.

23. Una sal de ácido metansulfónico de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que exhibe un espectro infrarrojo, cuando se analiza empleando el método de disco de KBr, que contiene picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} , en donde la sal es de preferencia sustancialmente cristalina.

24. Una sal de ácido metansulfónico de la sal de mesilato de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual es cristalina y se caracteriza por cualquiera o más (o cualquier combinación) o todos los siguientes parámetros, es decir, que la sal:

(a) tiene una estructura de cristal como se estipula en las Figuras 1 y 2; y/o

(b) tiene una estructura de cristal como se define mediante las coordenadas del Ejemplo 2 de la presente; y/o

(c) tiene parámetros de celosía de cristal en 93 K

$a=8.90(10)$, $b=12.44(10)$, $c=38.49(4)$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$; y/o

(d) tiene una estructura de cristal que pertenece a un grupo de espacio orto-rómbico, tal como $Pbca$ (# 61); y/o

(e) tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X caracterizado por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ) y en los espacios interplanares (d) estipulados en la Tabla A, y opcionalmente en la Tabla B; por ejemplo, en donde el patrón de difracción en polvo de rayos-X se caracteriza por la presencia de picos mayores en los ángulos de difracción (2θ),
espacios interplanares (d), e intensidades, como se estipulan en la Tabla C de la presente; y/o

(f) exhibe picos en los mismos ángulos de difracción que aquéllos del patrón de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la Figura 3, y opcionalmente, en donde los picos tienen la misma intensidad relativa que los picos de la Figura 3; y/o

(g) tiene un patrón de difracción en polvo de rayos-X sustancialmente como se muestra en la Figura 3; y/o

(h) es anhidra y exhibe un pico endotérmico a $379-380^\circ\text{C}$, por ejemplo a 379.8°C , cuando se somete a calorimetría de exploración diferencial; y/o

(i) exhibe un espectro infrarrojo, cuando se analiza empleando el método de disco de KBr, que contiene picos característicos en 3233, 3002, 2829, 1679, 1632, 1560, 1430, 1198, 1037, 909, y 784 cm^{-1} .

25. Un método para la preparación de una sal de adición de

ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuyo método comprende formar una solución de la base libre de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en un solvente (típicamente un solvente orgánico) o una mezcla de solventes, y tratar la solución con un ácido para formar un precipitado de la sal de adición de ácido.

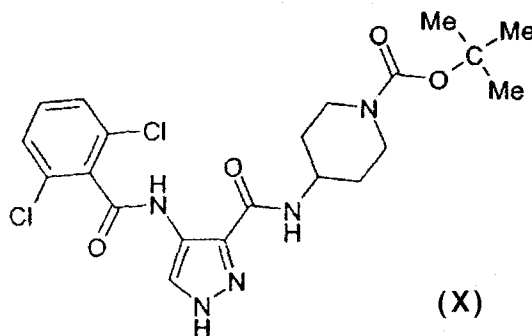
26. Un método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde la sal de adición de ácido es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

27. Un método para preparar una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, cuyo método comprende disolver la base libre de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico en un solvente que comprende un ácido volátil y opcionalmente un co-solvente, para formar de esta manera una solución de la sal de adición de ácido con el ácido volátil, y luego concentrar y evaporar la solución para aislar la sal.

28. Un método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde la sal de adición de ácido es la sal formada con ácido acético.

29. Un método para formar una sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 24, cuyo método comprende tratar un compuesto de la fórmula (X):



10 con un ácido orgánico o inorgánico como se define en la presente, diferente de ácido clorhídrico, en un solvente orgánico, para remover el grupo terbutiloxi-carbonilo y formar una sal de adición de ácido de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico con el ácido orgánico o

15 inorgánico, y opcionalmente después aislar la sal de adición de ácido así formada, y recristalizar la sal de adición de ácido para dar una forma cristalina, por ejemplo, una forma cristalina de una sal de adición de ácido, como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

20 30. Una sal de adición de ácido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, la cual es una sal que tiene una solubilidad en agua de más de 15 miligramos/ mililitro, más típicamente de más de 20 miligramos/mililitro, de preferencia de más de 25 miligramos/mililitro, y de una manera muy preferible de más de

25 30 miligramos/mililitro.

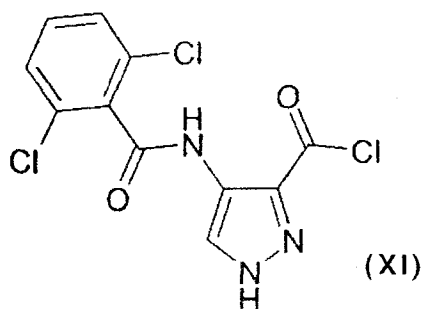
31. Una composición farmacéutica que comprende una solución acuosa que contiene una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en una concentración mayor a 15 miligramos/mililitro, típicamente mayor a 20 miligramos/ mililitro, de preferencia mayor a 25 miligramos/mililitro, y de una manera muy preferible mayor a 30 miligramos/mililitro.

32. Una solución acuosa de una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en donde la solución acuosa tiene un pH de 2 a 12, por ejemplo de 2 a 9, y más particularmente de 4 a 7.

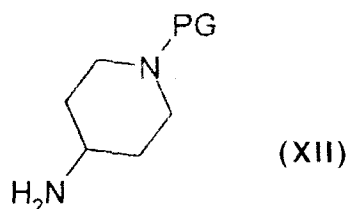
33. Una solución acuosa de acuerdo con la reivindicación 32, la cual tiene el pH regulado.

34. Una solución acuosa de acuerdo con la reivindicación 33, en donde la sal de adición de ácido es una sal formada con ácido metansulfónico, y el regulador del pH es un regulador formado a partir de ácido acético y acetato de sodio, por ejemplo en una solución a un pH de aproximadamente 4.6.

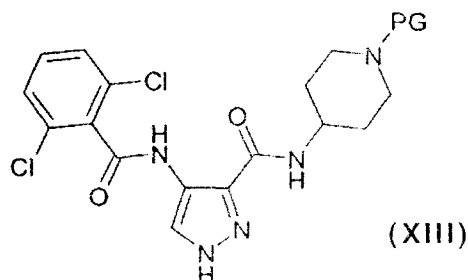
35. Un proceso para la preparación de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma, cuyo proceso comprende la reacción de un compuesto de la fórmula (XI):



con un compuesto de la fórmula (XII):



en donde PG es un grupo protector de amina, en un solvente orgánico, en la presencia de una base que no interfiera, tal como trietil-amina, para dar un compuesto de la fórmula (XIII):



y posteriormente remover el grupo protector PG para dar la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o la sal de la misma; y opcionalmente recrystalizar la sal para dar una forma cristalina, por ejemplo, una forma cristalina de una sal de adición de ácido como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

36. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 31, en donde el grupo protector PG es terbutiloxi-carbonilo, y la remoción del grupo protector se efectúa con un ácido.

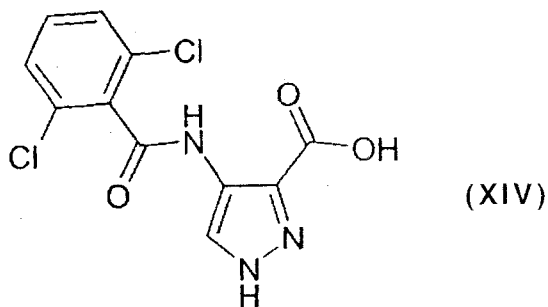
37. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 36, en donde el ácido es un ácido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 6, y 7.

38. Un método para preparar un intermediario químico de la fórmula (XIII), mediante la reacción del compuesto de la fórmula (XI) con el compuesto de la fórmula (XII) como se define en la reivindicación 35.

39. Un intermediario químico novedoso de la fórmula (XI), como se define en la reivindicación 35.

40. Un proceso para la preparación de la piperidín-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma, cuyo proceso comprende:

(i) tratar un compuesto de la fórmula (XIV):



con cloruro de tionilo en un solvente orgánico no prótico, opcionalmente con calentamiento;

(ii) hacer reaccionar el producto del paso (i) con un

compuesto de la fórmula (XII) en la presencia de una base que no interfiera, tal como trietil-amina, opcionalmente con calentamiento, para dar un compuesto de la fórmula (XIII); y

(iii) remover el grupo protector PG del compuesto de la fórmula (XIII), para dar la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de la misma; y opcionalmente,

(iv) recrystalizar la sal para dar una forma cristalina, por ejemplo una forma cristalina como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

41. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 40, en donde, en el paso (i), la reacción con cloruro de tionilo se lleva a cabo con calentamiento, a una temperatura en el intervalo de 80°C a 100°C.

42. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 40 o con la reivindicación 41, en donde el solvente en el que se lleva a cabo el paso (i) es un solvente de hidrocarburo aromático, tal como tolueno.

43. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40 a 42, en donde el paso (ii) se lleva a cabo con calentamiento a una temperatura de hasta aproximadamente 55°C, más típicamente hasta 50°C, por ejemplo a una temperatura en el intervalo de 45°C a 50°C.

44. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40 a 43, en donde, en el paso (ii), la reacción se lleva a cabo en tetrahidrofurano.

45. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40 a 44, en donde, en el paso (iii), el grupo protector es uno que se puede remover mediante el tratamiento con un ácido, seleccionándose el ácido para dar lugar a una sal deseada de la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico.

46. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 45, en donde el grupo protector es un grupo terbutiloxi-carbonilo.

47. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 45 o con la reivindicación 46, en donde el ácido es un ácido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 6, y 7.

48. Una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en la profilaxis o el tratamiento de un estado de enfermedad o condición mediada por una cinasa dependiente de ciclina o cinasa-3 de sintasa de glicógeno.

49. Un método para la profilaxis o el tratamiento de un estado de enfermedad o condición mediada por una cinasa dependiente de ciclina o cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo método comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

50. Un método para aliviar o reducir la incidencia de un

estado de enfermedad o condición mediada por una cinasa dependiente de ciclina o cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo método comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

51. Un método para el tratamiento de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir de un crecimiento celular anormal en un mamífero, cuyo método comprende administrar al mamífero una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento celular anormal.

52. Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento celular anormal en un mamífero, cuyo método comprende administrar al mamífero una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento celular anormal.

53. Un método para el tratamiento de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento celular anormal en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define

en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en una cantidad efectiva para inhibir la actividad de una cinasa cdk (tal como cdk1 ó cdk2) o de cinasa-3 de sintasa de glicógeno.

5 54. Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o condición que comprende o se presenta a partir del crecimiento celular anormal en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, en una cantidad
10 efectiva para inhibir la actividad de una cinasa cdk (tal como cdk1 ó cdk2) o de cinasa-3 de sintasa de glicógeno.

55. Un método para inhibir una cinasa dependiente de ciclina o una cinasa-3 de sintasa de glicógeno, cuyo método comprende poner en contacto la cinasa con una sal de piperidin-4-ilamida del
15 ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

56. Un método para modular un proceso celular (por ejemplo, la división celular), mediante la inhibición de la actividad de una cinasa dependiente de ciclina o de una cinasa-3 de sintasa de
20 glicógeno, utilizando una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

57. Una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera
25 de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en la profilaxis o el

tratamiento de un estado de enfermedad, como se describe en la presente.

58. El uso de una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para la fabricación de un medicamento, en donde el medicamento es para cualquiera o más de los usos definidos en la presente.

59. Una composición farmacéutica, la cual comprende una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

60. Una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en medicina.

61. Una sal de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para cualquiera de los usos y métodos estipulados anteriormente, y como se describe en cualquier otra parte de la presente.

62. La piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de adición de ácido de la misma (por ejemplo, una sal de clorhidrato o una sal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24), para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B.

63. La piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de adición de ácido de la misma (por ejemplo, una sal de clorhidrato o una sal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24), para utilizarse en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica.

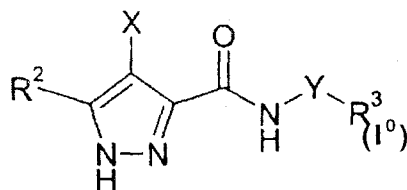
64. La piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico o una sal de adición de ácido de la misma (por ejemplo, una sal de clorhidrato o una sal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24), para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B grande y difuso.

65. Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B.

66. Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica.

67. Una sal de adición de ácido de piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en el tratamiento de linfoma de células-B grande y difuso.

68. El uso de un compuesto de la fórmula (I⁰):



5 y los sub-grupos, modalidades, y ejemplos del mismo, como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179, y en donde R^2 , R^3 , X, e Y son como se definen en la Publicación Internacional Número PCT/GB2004/003179, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de linfoma de células-B, leucemia
10 linfocítica crónica, o linfoma de células-B grande y difuso.

69. Un método de tratamiento de linfoma de células-B, linfoma de células-B grande y difuso, o leucemia linfocítica crónica, cuyo método comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un
15 compuesto de la fórmula (I⁰) como se define en la reivindicación 68.

70. Un uso de acuerdo con la reivindicación 63, o un método de acuerdo con la reivindicación 69, en donde el compuesto de la fórmula (I⁰) es la piperidin-4-ilamida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico y sus sales (por ejemplo, sales de
20 adición de ácido), solvatos, tautómeros, o N-óxidos.

71. Un uso o método de acuerdo con la reivindicación 70, en donde la sal es una sal de clorhidrato.

72. Un método para el diagnóstico y el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediada por una cinasa dependiente de ciclina, cuyo método comprende: (i) rastrear a un
25

paciente para determinar si una enfermedad o condición de la que esté o pueda estar sufriendo el paciente, es una que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra las cinasas dependientes de ciclina; y (ii) en donde se indique que la enfermedad o condición de la que está sufriendo el paciente es así susceptible, administrar posteriormente al paciente una sal de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

73. El uso de una sal de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de un estado o condición de enfermedad en un paciente que se haya rastreado y que se haya determinado que está sufriendo de, o que esté en riesgo de sufrir de, una enfermedad o condición que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra la cinasa dependiente de ciclina.

74. Una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en la inhibición del crecimiento tumoral en un mamífero.

75. Una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, para utilizarse en

la inhibición del crecimiento de células tumorales (por ejemplo, en un mamífero).

76. Un método para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), cuyo método comprende administrar al mamífero (por ejemplo, un ser humano), una cantidad inhibidora del crecimiento tumoral efectiva de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

77. Un método para inhibir el crecimiento de células tumorales (por ejemplo, las células tumorales presentes en un mamífero, tal como un ser humano), cuyo método comprende poner en contacto las células tumorales con una cantidad inhibidora del crecimiento de células tumorales efectiva de una sal de adición de ácido de la piperidin-4-il-amida del ácido 4-(2,6-dicloro-benzoil-amino)-1H-pirazol-3-carboxílico, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24.

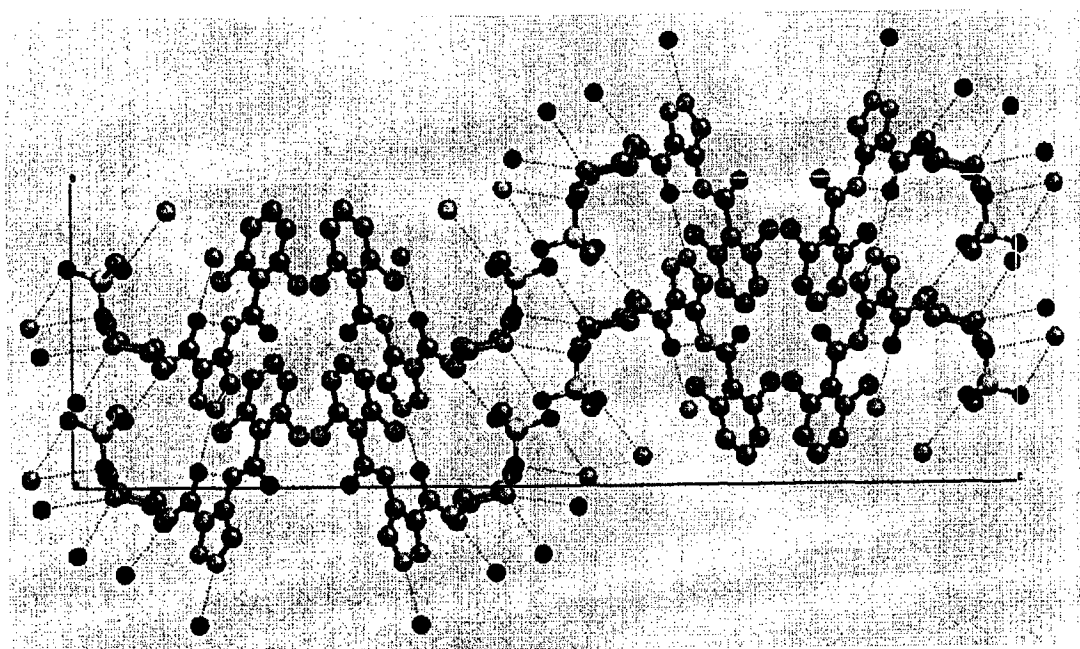


FIG. 2

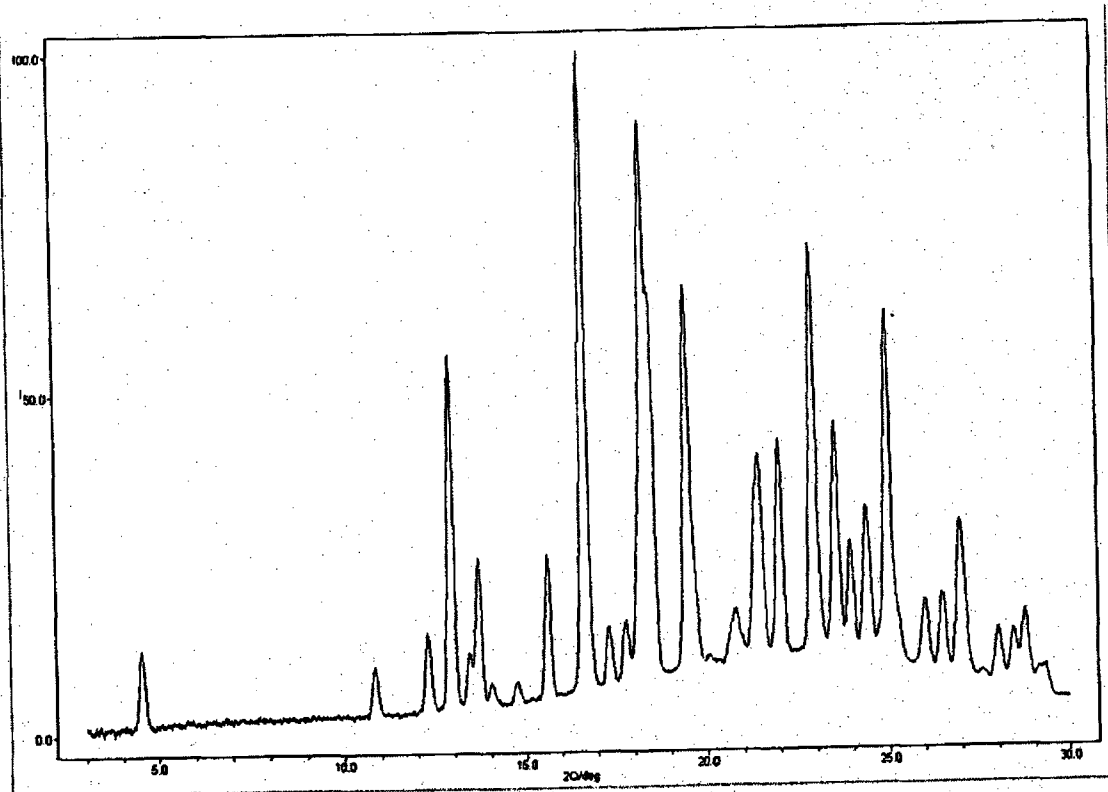


FIG. 3

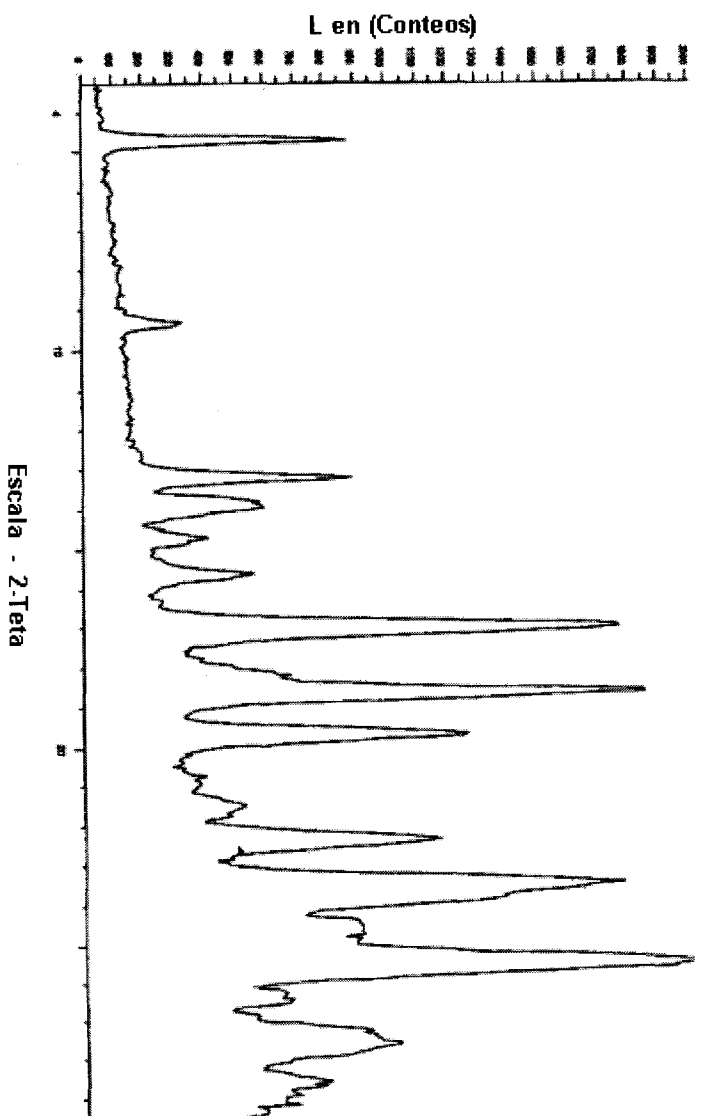


FIG. 4

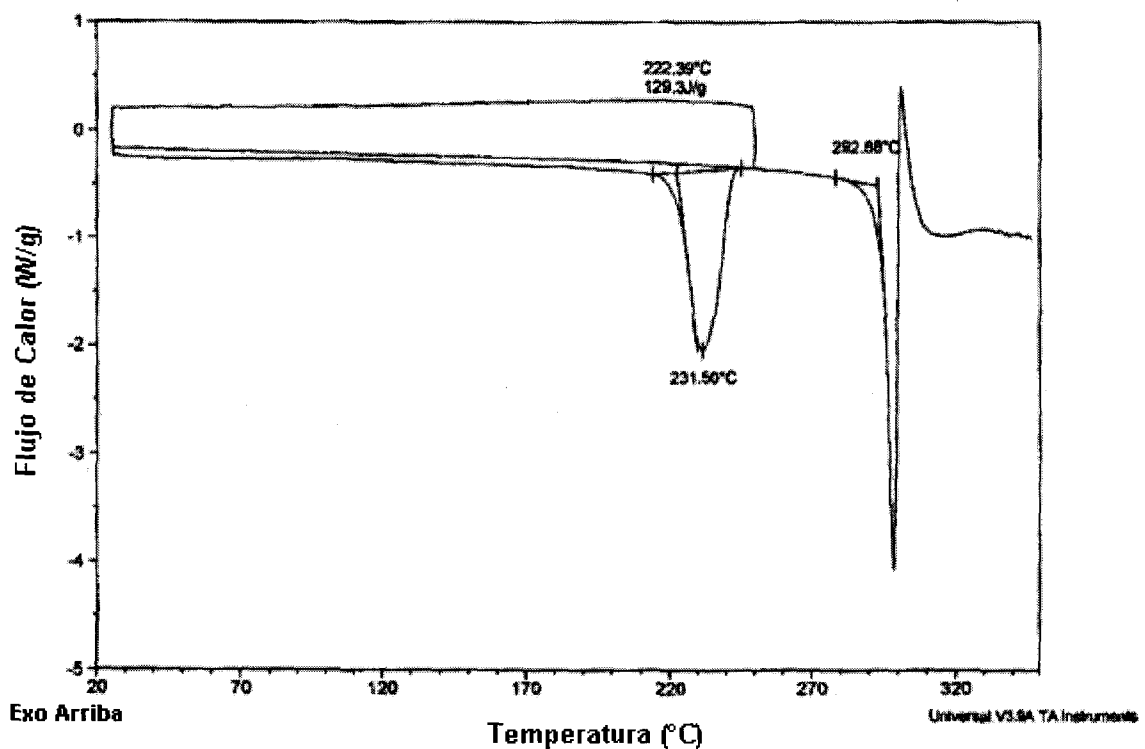


FIG. 5

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
27 July 2006 (27.07.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/077426 A2

(51) International Patent Classification:

C07D 401/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)

(74) Agent: HUTCHINS, Michael, Richard; M.R. Hutchins
& Co., 33 Mount Sion, Tunbridge Wells, Kent TN1 1TZ
(GB).

(21) International Application Number:

PCT/GB2006/000207

(22) International Filing Date: 20 January 2006 (20.01.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/645,973 21 January 2005 (21.01.2005) US
0501475.8 22 January 2005 (22.01.2005) GB

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): ASTEX
THERAPEUTICS LIMITED [GB/GB]; 436 Cambridge
Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): WYATT, Paul,
Graham [GB/GB]; 436 Cambridge Science Park, Milton
Road, Cambridge CB4 0QA (GB). REES, David,
Charles [GB/GB]; 436 Cambridge Science Park, Milton
Road, Cambridge CB4 0QA (GB). VINKOVIC, Mladen
[HR/GB]; 436 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge CB4 0QA (GB). TREWARTHA, Gary
[GB/GB]; 436 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge CB4 0QA (GB).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOUNDS

(57) Abstract: The invention provides an acid addition salt of 4-(2,6-dichloro-benzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid piperidin-4-ylamide and crystals thereof, the salt being formed with an acid selected from methanesulphonic acid and acetic acid and mixtures thereof. Also provided are the novel uses of salts of 4-(2,6-dichloro-benzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid piperidin-4-ylamide, processes for the preparation of 4-(2,6-dichloro-benzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid piperidin-4-ylamide and its salts and novel chemical intermediates.

WO 2006/077426 A2

PATENT COOPERATION TREATY

200
RECEIVED

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

M.R. HUTCHINS & CO.
Attn. Hutchins, Michael R.
23 Mount Sion
Tunbridge Wells
Kent TN1 1TZ
UNITED KINGDOM

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

19/07/2006

Applicant's or agent's file reference

AST54 (WO)

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/GB2006/000207

International filing date
(day/month/year)

20/01/2006

Applicant

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
- ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Eva Brell

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1 bis(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43 bis.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AST54 (WO)	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/GB2006/000207	International filing date (day/month/year) 20/01/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 21/01/2005
Applicant ASTEX THERAPEUTICS LIMITED		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☒ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

4 - (2,6-DICHLORO BENZOYLAMINO) - 1H-PYRAZOLE-3-CARBOXYLIC ACID PIPERIDIN-4-YLAMIDE ACID ADDITION SALTS AS KINASE INHIBITORS

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2006/000207

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D401/12 A61K31/4155 A61K31/454 A61P35/00 A61P35/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 2005/012256 A (ASTEX TECHNOLOGY LTD.) 10 February 2005 (2005-02-10) cited in the application page 82, line 5 - line 30; claims 1-115; example 237	1-67, 70-77
A	----- WO 02/062804 A (PHARMACIA ITALIA S.P.A.) 15 August 2002 (2002-08-15) claims 1-43 -----	1-67, 70-77

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 April 2006

Date of mailing of the international search report

19. 07. 2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Herz, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2006/000207

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005012256 A	10-02-2005	AU 2004261459 A1 CA 2532965 A1 EP 1651612 A1	10-02-2005 10-02-2005 03-05-2006
WO 02062804 A	15-08-2002	AT 304017 T CA 2437260 A1 DE 60206028 D1 DE 60206028 T2 DK 1377589 T3 EP 1377589 A1 ES 2248532 T3 JP 2004520394 T MX PA03006863 A NZ 527123 A US 2004180881 A1	15-09-2005 15-08-2002 13-10-2005 29-06-2006 09-01-2006 07-01-2004 16-03-2006 08-07-2004 13-11-2003 29-04-2005 16-09-2004

205

205

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2006/000207

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-67, 70-77

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-67,70-77

4-(2,6-Dichlorobenzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid
piperidin-4-ylamide acid addition salts, processes for their
production and use thereof

2. claims: 68,69

Use of pyrazole-3-carboxamides for the manufacture of a
medicament

PATENT COOPERATION TREATY

208

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/GB2006/000207

International filing date (day/month/year)
20.01.2006

Priority date (day/month/year)
21.01.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D401/12 A61K31/4155 A61K31/454 A61P35/00 A61P35/02

Applicant
ASTEX THERAPEUTICS LIMITED

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Herz, C

Telephone No. +49 89 2399-8275



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2006/000207

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

210

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2006/000207

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 49-56, 68-77

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 49-56, 70-77 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☒ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos. 68, 69

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2006/000207

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
 - ☐ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☒ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
 - ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
 - ☐ all parts.
 - ☒ the parts relating to claims Nos. 1-67,70-77

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-48, 57-67
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-48, 57-67
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-48, 57-67
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

212

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/GB2006/000207

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43*bis*.1 and 70.10)
and / or
2. Non-written disclosures (Rules 43*bis*.1 and 70.9)
see form 210

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/GB2006/000207

1. Prior art as indicated in the specification of the present application already discloses 4-(2,6-dichlorobenzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid piperidin-4-ylamide and its hydrochloride as kinase inhibitors. The problem the present application sets out to solve is the provision of further acid addition salts of this amide. One solution could be seen in the provision of the claimed specific acid addition salts. Claims 68 and 69 relate to the use of a broad group of pyrazolecarboxamides of formula I^o for the manufacture of a medicament for the treatment of lymphoma and leukaemia and, hence, constitute solutions to a different problem. Therefore it is considered that the groups of compounds and use mentioned above are not linked by a single inventive concept and that the invention therefore lacks unity of invention (Rule 13 PCT). This Written Opinion deals with subject-matter first mentioned in Claim 1 (4-(2,6-dichlorobenzoylamino)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid piperidin-4-ylamide acid addition salts).
2. Claims 49 to 56 and 70 to 77 are directed to a therapeutical method performed on humans. Under the terms of Rule 67.1 (iv) PCT, the International Preliminary Examination Authority is not required to carry out an examination on such claims.
3. The priority documents pertaining to the present application were not available at the time of establishing the first written opinion. Hence, it is based on the assumption that all claims enjoy priority rights from the filing date of the priority document. If it later turns out that this is not correct document D1: WO 2005/012256 cited in the application and in the International Search Report (ISER) could become relevant in order to assess whether the claims satisfy the criteria set forth in Article 33 (1) PCT.
4. Claims 7, 11, 12, 17-23, 25, 30-32, 35, 40, 43 and 62-64 include preferential features, consequently they should be divided in dependent claims (Rule 6.4).

The term "substantially" in Claims 11-16, 19, 20 and 24 is unclear und should therefore be omitted (Art. 6 PCT).

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/GB2006/000207

RECEIVED

03 MAR 2006

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

HUTCHINS, Michael, Richard
M.R. Hutchins & Co.
33 Mount Sion
Tunbridge Wells
Kent TN1 1TZ
ROYAUME-UNI

Date of mailing (day/month/year)

22 March 2006 (22.03.2006)

Applicant's or agent's file reference

AST54

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/GB2006/000207

International filing date (day/month/year)

20 January 2006 (20.01.2006)

International publication date (day/month/year)

Not yet published

Priority date (day/month/year)

21 January 2005 (21.01.2005)

Applicant

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED et al

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date

Priority application No.

Country or regional Office
or PCT receiving OfficeDate of receipt
of priority document

21 January 2005 (21.01.2005)
22 January 2005 (22.01.2005)

60/645.973
0501475.8

US
GB

07 March 2006 (07.03.2006)
13 February 2006 (13.02.2006)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Carlos Roy - Gijsbertus Beijer

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Facsimile No. +41 22 740 14 35

Form PCT/IB/304 (October 2005)

Telephone No. +41 22 338 95 61

CSHPKXPM



From the INTERNATIONAL BUREAU

RECEIVED

PCT

FIRST NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF
THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES WHICH
DO NOT APPLY THE 30 MONTH TIME LIMIT
UNDER ARTICLE 22(1))

(PCT Rule 47.1(c))

To:

31 AUG 2006

HUTCHINS, Michael, Richard
M.R. Hutchins & Co.
33 Mount Sion
Tunbridge Wells
Kent TN11 1TZ
ROYAUME-UNI

Date of mailing (day/month/year) 24 August 2006 (24.08.2006)		
Applicant's or agent's file reference AST54		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/GB2006/000207	International filing date (day/month/year) 20 January 2006 (20.01.2006)	Priority date (day/month/year) 21 January 2005 (21.01.2005)
Applicant ASTEX THERAPEUTICS LIMITED et al		

1. **ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does apply**, please see Form PCT/IB/308(Second and Supplementary Notice) (to be issued promptly after the expiration of 28 months from the priority date).

2. Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
27 July 2006 (27.07.2006)

CH

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

3. The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1:

LU, SE, TZ, UG, ZM

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. TIME LIMITS for entry into the national phase

For the designated Office(s) listed above, and unless a demand for international preliminary examination has been filed before the expiration of **19 months** from the priority date (see Article 39(1)), the applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **20 MONTHS** from the priority date.

In practice, **time limits other than the 20-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated Offices listed above. For **regular updates on the applicable time limits** (20 or 21 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Dorothee Mülhausen
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: pt01@wipo.int

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT**SECOND AND SUPPLEMENTARY NOTICE
INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES
WHICH APPLY THE 30 MONTH TIME
LIMIT UNDER ARTICLE 22(1))**

(PCT Rule 47.1(c))

To:

HUTCHINS, Michael, Richard
M.R. Hutchins & Co.
33 Mount Sion
Tunbridge Wells
Kent TN1 1TZ
ROYAUME-UNI

RECEIVED

31 MAY 2007

Date of mailing (day/month/year)
24 May 2007 (24.05.2007)Applicant's or agent's file reference
AST54**IMPORTANT NOTICE**International application No.
PCT/GB2006/000207International filing date (day/month/year)
20 January 2006 (20.01.2006)Priority date (day/month/year)
21 January 2005 (21.01.2005)

Applicant

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED et al

- ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), does not apply, please see Form PCT/IB/308(First Notice) issued previously.
- Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, does apply, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
27 July 2006 (27.07.2006)

AU, AZ, BY, CN, CO, DZ, EP, HU, KG, KP, KR, MD, MK, MZ, NA, NG, PG, RU, SY, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

- The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, does apply, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, BA, BB, BG, BR, BW, BZ, CA, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EA, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KM, KN, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, LY, MA, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, SC, SD, SG, SK, SL, SM, TJ, TN, TR, TT, UA, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4 TIME LIMITS for entry into the national phase

For the designated or elected Office(s) listed above, the applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated or elected Office(s) listed above. For regular updates on the applicable time limits (30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Dorothee Mülhausen

Facsimile No. +41 22 338 82 70

e-mail: pt01.pct@wipo.int

M.R. HUTCHINS & CO

*Chartered Patent Attorneys
European Patent Attorneys
European Trade Mark Attorneys
Registered Trade Mark Agents*

23 Mount Sion
Tunbridge Wells
Kent TN1 1TZ
United Kingdom

Tel: 01892 539659
fax: 01892 528720
e-mail: mail@mrhutchins.com

DATA SHEET AND FILING INSTRUCTIONS

Our Case Reference: AST54

Astex Case Reference: P0052

Novartis Reference: 34646

Please file a new PCT national phase patent application in your country by:

21st July 2007 (30 month deadline)

or

21st August 2007 (31 month deadline)

whichever is applicable, on the basis of the enclosed documents and the following data:

1. International Patent Application Number

PCT/GB2006/000207

2. International Publication Number

WO 2006/077426

3. Applicant

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED

436 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge CB4 0QA,
United Kingdom.

A company organised and existing under the laws of England, United Kingdom.

N.B. The International application was filed in the name of Astex Therapeutics Limited but the two UK priority applications were filed in the name of Astex Technology Limited prior to their change of name to Astex Therapeutics Limited on 27th June 2005. If you require a certified copy or notarised/legalised copy of the name change certificate, please let us know.

4. International Filing Date

20 January 2006

5. Convention Priorities (2)

218

Data Sheet and filing instructions continued
Our Case Reference: AST54
Astex Case Reference: P0052
Novartis Reference: 34646

- | | |
|---|--------------------------------------|
| (1) US provisional patent application US 60/645,973 | Filed: 21 st January 2005 |
| (2) UK Patent Application GB 0501475.8 | Filed: 22 nd January 2005 |

6. Inventors

- (1) David Charles Rees, a British citizen
- (2) Gary Trewartha, a British citizen
- (3) Mladen Vinković, a Croatian citizen
- (4) Paul Graham Wyatt, a British citizen

The address for inventors (1) to (3) is:

436 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0QA,
United Kingdom

The address for inventor (4) is:

Division of Biological Chemistry & Molecular Microbiology
University of Dundee
Dow Street
Dundee DD1 5EH

7. Applicant's Entitlement to File a Patent Application

The applicant is entitled to the rights in the invention described in the patent application by virtue of contracts of employment with the inventors and the operation of Section 39 of the UK Patents Act 1977.

8. International Classification

Main classifications C07D; A61K; A61P

Detailed classifications: C07D 401/12; A61K 31/4155; A61K 31/454; A61P 35/00, A61P 35/02

9. Translations

Where translations of the patent specification or any priority documents from English into the language of your country are required, please prepare the necessary translations at your end unless our accompanying instructing letter indicates otherwise.

Data Sheet and filing instructions continued
Our Case Reference: AST54
Astex Case Reference: P0052
Novartis Reference: 34646

10. Renewal Fees and Requests for Examination

In the event that any renewal fees become due within 6 months of filing the application, these should be paid automatically.

Similarly, if any requests for examination or confirmation that the applicant wishes to proceed with the application are due within 6 months of filing the application, these should also be made automatically.

If any requests for examination or renewal fees are due more than 6 months after filing the application, please send us a reminder and seek our instructions before proceeding (but see item 12 below)

11. Correspondence & Invoices

Please send out correspondence and relevant documents as follows:

(a) All correspondence and relevant documents including copies of the invoices should be sent to the above address of M.R. Hutchins & Co.

(b) Original invoices, and copies of all correspondence and documents, should be sent to:

Novartis International AG
Corporate Intellectual Property
CH-4002
Basel
SWITZERLAND

quoting the Novartis case reference: **34646**

Please apply any discounts that you may previously have agreed with Novartis.

(c) Copies of all correspondence, including copies of invoices, should also be sent by mail, fax or e-mail where appropriate to:

Dr Michelle Jones
Astex Therapeutics Limited
436 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge CB4 0QA,
United Kingdom

Tel: +44 1223 226 230

Fax: +44 1223 226 201

E-mail: M.Jones@astex-therapeutics.com

(d) All e-mails should also be copied to Silke Schnerr [S.Schnerr@astex-

220

Data Sheet and filing instructions continued
Our Case Reference: AST54
Astex Case Reference: P0052
Novartis Reference: 34646

therapeutics.com]

12. General

No demand for International Preliminary Examination was made for this application.

The application should be filed no later than 2 days before the deadline. Please advise us by fax or e-mail before the deadline as soon the application has been filed.

Please note that this application (and any patents arising therefrom) should be maintained in force at all times and under no circumstances should be abandoned unless you receive explicit instructions from us to the contrary. We shall endeavour to provide you with timely instructions but, in the event that we are unable to do so, we request that you take the minimum action necessary to keep the application or patent alive.

If there are any further items of information or documents that you need in connection with the filing of the application, please let us know as soon as possible.

Thank you for your cooperation.

M.R. Hutchins & Co.

223 224

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-075238- -00000-0000

Fecha: 2007-07-24 16:19:38 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 222



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

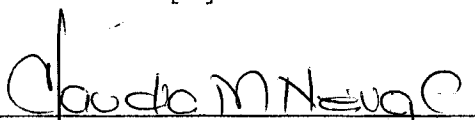
INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

224
222

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
ESCOBAR URIBE JIMENA
Apoderado(a) y/o Representante de
ASTEX THERAPEUTICS LIMITED

3072

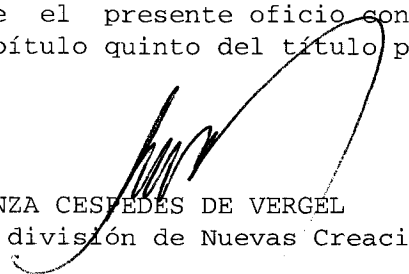
REFERENCIA	Radicación No.	7 75238
	Solicitud internacional	PCT/GB2006/000207
	Fecha inicio fase nacional	21/08/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	13098

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPÉDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 02 OCT 2007
adpal1