

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 968 421**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.06.2018 PCT/US2018/038737**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2018 WO18237134**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2018 E 18821459 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2023 EP 3641776**

54 Título: **Atropisomerismo para la selectividad potenciada de inhibidor de cinasa**

30 Prioridad:

23.06.2017 US 201762524256 P

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

09.05.2024

73 Titular/es:

**SAN DIEGO STATE UNIVERSITY RESEARCH
FOUNDATION (100.0%)
5500 Campanile Drive SSE 1410P
San Diego, California 92182-8220, US**

72 Inventor/es:

**GUSTAFSON, JEFFREY L.;
TOENJES, SEAN THOMAS y
MADDOX, SEAN M.**

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 968 421 T3

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

DESCRIPCIÓN

Atropisomerismo para la selectividad potenciada de inhibidor de cinasa

5 Antecedentes de la invención

El genoma humano contiene más de 500 proteína cinasas. Estas cinasas afectan las rutas de transducción de señales intracelulares mediante la fosforilación de proteínas. La actividad aberrante de la cinasa ha sido implicada en numerosas enfermedades, lo que ha conducido a un intenso esfuerzo de descubrimiento de fármacos para desarrollar terapias anti-cinasa eficaces, lo que ha dado como resultado más de 20 inhibidores de cinasa dirigidos aprobados por la FDA, principalmente para el tratamiento de cánceres, incluida la leucemia mieloide crónica y el cáncer de pulmón no microcítico. Mientras que estos esfuerzos han revolucionado la terapia contra el cáncer, un alto grado de conservación del sitio activo en toda la familia de las cinasas causa que la mayoría de los inhibidores de cinasas posean actividades de inhibición promiscuas hacia muchas cinasas. Mientras que a menudo es necesaria para una respuesta completa, esta polifarmacología también puede conducir a efectos secundarios que afectan negativamente la calidad de vida, previniendo en gran medida que los inhibidores de cinasa se conviertan en terapias para enfermedades crónicas no letales tales como la artritis reumatoide, donde la selectividad se convierte en un requisito mucho mayor.

Los inhibidores de cinasa también son sondas químicas comunes para dilucidar el papel de una cinasa o rutas de señalización en procesos o enfermedades celulares. Estos estudios fundamentales se ven frecuentemente confundidos por la inhibición de cinasa inespecífica que afecta rutas de señalización no deseadas. En los últimos años, los químicos y biólogos han comenzado a comprender los factores que pueden contribuir a aumentar la selectividad de una molécula pequeña hacia una cinasa específica usando "filtros de selectividad" que se benefician de características inusuales en un sitio activo de una cinasa para obtener inhibidores de cinasa altamente selectivos. Un filtro de selectividad general sigue siendo difícil de alcanzar ya que, por diseño, se basan en sucesos raros en un sitio activo. Por consiguiente, en la materia se necesita un filtro de selectividad en la inhibición de cinasas.

El atropisomerismo es una forma de quiralidad que surge de la rotación impedida alrededor de un eje que convierte los isómeros rotacionales en enantiómeros. Muchas moléculas pequeñas biológicamente activas poseen pocos impedimentos para la rotación y existen como una mezcla de atropisómeros que se interconvierte rápidamente, pero se unen a sus respectivas dianas biológicas de una manera específica de atropisómero. Esta naturaleza dinámica del atropisomerismo puede causar graves complicaciones en el desarrollo de fármacos, ya que los atropisómeros pueden manifestar perfiles farmacológicos drásticamente diferentes. Esto a menudo da como resultado efectos de confusión causados por el atropisómero relevante inespecífico, particularmente cuando un compuesto posee una estabilidad intermedia y puede racemizarse a lo largo del experimento.

Los investigadores han sintetizado análogos atropisoméricamente estables de una molécula de partida y han observado sorprendentes afinidades diana diferenciales entre los atropisómeros separados (Zask et al., *Chirality* 2013, 25, 265-274; Porter et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 1767-72), incluido un informe fundamental con un inhibidor de la MAP cinasa p38 (Xing et al., *ChemMedChem* 2012, 7, 273-280). Los análogos atropisoméricamente puros también pueden poseer un perfil toxicológico mejorado ya que se excluye el atropisómero de unión inespecífica. Por ejemplo, Yoshida sintetizó recientemente análogos de lamelarina atropisoméricos y descubrió que cada atropisómero posee un perfil de inhibición de cinasa notablemente diferente y que un atropisómero posee una selectividad mejorada en comparación con la molécula original (Yoshida et al., *J. Med. Chem.* 2013, 56, 7289-7301). Por consiguiente, se necesitan nuevos atropisómeros y métodos para su preparación y evaluación para proporcionar inhibidores de cinasas mejorados con selectividad potenciada para aplicaciones científicas y médicas.

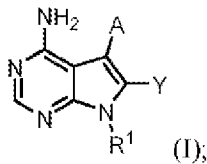
El documento WO2017027883 divulga una serie de inhibidores de cinasa conformacionalmente estables y métodos para usar los inhibidores de cinasa. Se valoró el efecto del atropisomerismo sobre la selectividad de la cinasa y se encontró una selectividad mejorada en comparación con los compuestos originales de interconversión rápida.

Compendio

La divulgación proporciona un método para estudiar la conformación de atropisómeros como filtro de selectividad en la inhibición de cinasas. La invención proporciona compuestos que tienen una mayor selectividad de cinasa. La invención también proporciona atropisómeros que tienen una mayor selectividad de cinasa, para su uso en el tratamiento del cáncer.

5 Por consiguiente, la invención proporciona un atropisómero de un inhibidor de cinasa en el que la selectividad del atropisómero está modulada en comparación con el correspondiente inhibidor de cinasa original de interconversión rápida, en el que el inhibidor de cinasa comprende un resto de bloqueo rotacional del atropisomerismo en un resto rotatorio del inhibidor de cinasa original (p. ej., un resto fenilo), proporcionando así el atropisómero que tiene selectividad de cinasa modulada. El atropisómero es una pirrolopirimidina conformacionalmente estable.

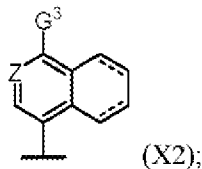
10 La invención proporciona el atropisómero conformacionalmente estable y compuesto inhibidor selectivo de cinasa de Fórmula I:



o una sal o solvato del mismo;

15 en la que

A es un resto de Fórmula X2:



20 G³ es H, metilo, etilo o NH₂;

Y es fluoro, cloro, bromo, NH₂, -alquilo (C₁-C₄) o -CH₂N(R^B)₂;

25 Z es CH o N;

----- es un enlace arilo;

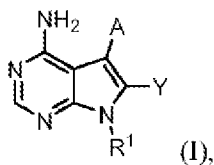
30 R¹ es -alquilo (C₁-C₈), -cicloalquilo (C₁-C₈), piperidina o -fenilo(Q), en el que -alquilo (C₁-C₈) es ramificado o no ramificado;

cada R^B es independientemente H, -alquilo (C₁-C₄), -C(=O)(alquilo C₁-C₄) o -C(=O)(CH₂)Cl; y

35 Q es H, metilo, etilo, fluoro, cloro o bromo, en el que Q está en la posición *orto*-, *meta* o *para*- del resto -fenilo(Q),

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (R).

40 La invención también proporciona un compuesto de Fórmula I:



o una sal o solvato del mismo;

45 en la que

A es isoquinolilo;

Y es metilo; y

50 R¹ es t-butilo;

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (*R*) o una configuración (*S*).

5 La invención proporciona compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón, tal como cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de colon, leucemia mieloide crónica, o cáncer de tiroides.

Breve descripción de los dibujos

10

Los siguientes dibujos forman parte de la memoria descriptiva y se incluyen para demostrar aún más ciertas realizaciones o diversos aspectos de la invención. En algunos casos, las realizaciones de la invención se pueden entender mejor consultando los dibujos adjuntos en combinación con la descripción detallada presentada en la presente memoria. La descripción y los dibujos adjuntos pueden destacar un ejemplo concreto determinado o cierto aspecto de la invención. Sin embargo, un experto en la materia comprenderá que partes del ejemplo o aspecto pueden usarse en combinación con otros ejemplos o aspectos de la invención.

15

Figura 1. A) Inhibidores de cinasa aprobados por la FDA que manifiestan atropisomerismo de interconversión. B) Algunos PPY e inhibidores de cinasas relacionados.

20

Figura 2. A) Señales de HPLC quiral de 2e (solo referencia) antes y después de la separación de atropisómeros. B) Espectros de dicroísmo circular de atropisómeros separados de 2e. C) Estructura cristalina de rayos X del primer atropisómero eluido de configuración 1f (configuración (*R*)) (solo referencia). Los datos cristalográficos complementarios para (1f-(*R*)) se enviaron al Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC). Estos datos se pueden obtener de forma gratuita del CCDC a través de CCDC.Cam.ac.uk/data_request/cif.

25

Figura 3. La rama de tirosina cinasa del cinoma está marcada con círculos rojos, escalada al porcentaje de inhibición. Ilustraciones reproducidas por cortesía de Cell Signaling Technology, Inc. (cellsignal.com).

30

Figura 4. A y B) 2e-(*S*) (solo referencia) (A) y 2e-(*R*) (solo referencia) (B) acoplados a Src superpuesto con densidad electrónica de CGP77675 en oro (PDB 1YOL). Interacciones con Asp 406 representadas por líneas discontinuas. C y D) 2e-(*S*) (C) y 2e-(*R*) (D) acoplados a Ret superpuesto con la densidad electrónica de PP1 (PDB: 2IVV). Interacciones con Asp 892 e interacciones π con Lys 758 representadas por líneas discontinuas.

35

Descripción detallada

40

Existen muchas moléculas biológicamente activas como mezclas atropisoméricas de interconversión rápida. Mientras que un atropisómero inhibe el objetivo deseado, el otro puede conducir a efectos inespecíficos. En este documento se analiza el atropisomerismo como una herramienta para mejorar las selectividades de los inhibidores de cinasas mediante la síntesis de pirrolopirimidinas conformacionalmente estables. Cada atropisómero se aisló usando HPLC quiral y se sometió a una caracterización del perfil inhibidor en un panel de 18 tirosina cinasas. Cabe destacar que se observaron patrones de selectividad notablemente diferentes entre los atropisómeros, así como una selectividad mejorada en comparación con una molécula original de interconversión rápida. Posteriormente los estudios de acoplamiento computacional proporcionaron conocimientos sobre los orígenes de base estructural de estos efectos. Este estudio es uno de los primeros ejemplos de la organización previa intencional de un armazón promiscuo a lo largo de un eje atropisomérico para aumentar la selectividad de diana y proporciona conocimientos fundamentales que pueden aplicarse a otros armazones diana atropisoméricos.

45

50

Definiciones

55

Las siguientes definiciones se incluyen para proporcionar una comprensión clara y coherente de la memoria descriptiva y las reivindicaciones. Como se usan en la presente memoria, los términos mencionados tienen los significados siguientes. Todos los demás términos y frases usados en esta memoria descriptiva tienen sus significados habituales, como los entendería un experto en la materia. Tales significados habituales se pueden obtener consultando diccionarios técnicos, tales como el Hawley's Condensed Chemical Dictionary 14^a edición, de R.J Lewis, John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 2001.

60

Las referencias en la memoria descriptiva a "una realización", etc., indican que la realización descrita puede incluir un aspecto, un rasgo, una estructura, un resto o una característica concretos, pero no todas las realizaciones incluyen necesariamente ese aspecto, rasgo, estructura, resto o característica. Además, tales frases pueden, aunque no necesariamente, referirse a la misma realización a la que se haga referencia en otras partes de la memoria descriptiva. Además, cuando se describen un aspecto, un rasgo, una estructura,

65

un resto o una característica particulares en relación con una realización, el experto en la materia sabe afectar o conectar tal aspecto, rasgo, estructura, resto o característica con otras realizaciones, estén o no descritas explícitamente.

- 5 Las formas singulares "uno", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por, por ejemplo, una referencia a "un compuesto" incluye una pluralidad de tales compuestos, de forma que un compuesto X incluye una pluralidad de compuestos X. Además, cabe señalar que las reivindicaciones pueden estar redactadas de forma que excluyan cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base precedente para el uso de terminología exclusiva, tal como "únicamente", "solo" y similares, en relación con cualquier elemento descrito en la presente memoria, y/o la mención de elementos de reivindicación o el uso de limitaciones "negativas".

- 15 El término "y/o" significa uno cualquiera de los puntos, cualquier combinación de los puntos o todos los puntos con los que esté asociado este término. La frase "uno o más" y "al menos uno" son fáciles de entender por un experto en la materia, particularmente cuando se lee dentro del contexto de su uso. Por ejemplo, la frase puede significar uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, diez, 100 o cualquier límite superior aproximadamente 10, 100 o 1000 veces mayor que el límite inferior mencionado. Por ejemplo, uno o más sustituyentes en un anillo de fenilo se refiere a de uno a cinco, o de uno a cuatro.

- 20 Como un experto en la materia entenderá, todos los números, incluidos los que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como el peso molecular, condiciones de reacción y demás, son aproximaciones y se entiende que están opcionalmente modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". Estos valores pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que busquen obtener los expertos en la materia que utilicen las enseñanzas de las descripciones de la presente memoria. También se entiende que tales valores contienen inherentemente variabilidad, necesariamente resultante de las desviaciones estándares encontradas en sus correspondientes medidas de ensayo. Cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular sin el modificador "aproximadamente" forma también otro aspecto.

- 30 Como un experto en la materia entenderá, a todos los efectos, particularmente en términos de proporcionar una descripción escrita, todos los intervalos mencionados en el presente documento también abarcan todos y cada uno de los posibles subintervalos y combinaciones de subintervalos de los mismos, así como los valores individuales que componen el intervalo, particularmente los valores enteros. Se entiende por lo tanto que también se divulga cada unidad entre dos unidades en particular. Por ejemplo, si se divulgan 10 a 15, entonces 11, 12, 13, y 14 también se divulgan, individualmente, y como parte de un intervalo. Un intervalo mencionado (p. ej., porcentajes en peso o grupos de carbono) incluye cada valor, entero, decimal o identidad específicos dentro del intervalo. Cualquier intervalo enumerado se puede reconocer fácilmente como suficientemente descriptivo y permite descomponer el mismo intervalo en, al menos, mitades, tercios, cuartos, quintos o décimas iguales. Como ejemplo no limitante, cada intervalo expuesto en la presente memoria se puede descomponer fácilmente en un tercio inferior, un tercio medio y un tercio superior, etc. Como también entenderá un experto en la técnica, todas las expresiones tales como "hasta", "al menos", "mayor que", "menos de", "más de", "o más" y similares, incluyen el número mencionado y tales términos se refieren a intervalos que pueden ser descompuestos posteriormente en subintervalos, como se ha discutido anteriormente. Del mismo modo, todas las relaciones mencionadas en la presente memoria también incluyen todas las subrelaciones que caen dentro de la relación más amplia. Por consiguiente, los valores específicos mencionados para radicales, sustituyentes e intervalos, son meramente ilustrativos; no excluyen otros valores definidos u otros valores dentro de intervalos definidos para radicales y sustituyentes. Se entenderá además que los extremos de cada uno de los intervalos son significativos tanto en relación con el otro extremo, como independientemente del otro extremo.

- 50 Un experto en la materia también reconocerá fácilmente que cuando los miembros se agrupan juntos de una manera común, tal como en un grupo de Markush, la invención abarca no sólo el grupo completo enumerado como un todo, sino cada miembro del grupo individualmente y todos los posibles subgrupos del grupo principal. Adicionalmente, a todos los efectos, la invención abarca no sólo el grupo principal, sino también el grupo principal en ausencia de uno o más de los miembros del grupo. Por lo tanto, la invención prevé la exclusión explícita de uno cualquiera o más de los miembros de un grupo mencionado. Por consiguiente, se pueden aplicar salvedades a cualquiera de las categorías o realizaciones divulgadas en las que uno cualquiera o más de los elementos, especies o realizaciones mencionados pueden excluirse de tales categorías o realizaciones, por ejemplo, para su uso en una limitación negativa explícita.

- 60 El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo ramificado o no ramificado que tiene, por ejemplo, 1-20 átomos de carbono y, a menudo, de 1-12, 1-10, 1-8, 1-6 o 1-4 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo (*iso*-propilo), 1-butilo, 2-metil-1-propilo (*isobutilo*), 2-butilo (*sec*-butilo), 2-metil-2-propilo (*t*-butilo), 1-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 2-metil-2-butilo, 3-metil-2-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-1-butilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 3-metil-3-pentilo, 2-metil-3-pentilo, 2,3-dimetil-2-butilo, 3,3-dimetil-2-butilo, hexilo, octilo, decilo, dodecilo y

similares. El alquilo puede estar sustituido o no sustituido, por ejemplo, con un sustituyente descrito a continuación.

5 El término "cicloalquilo" se refiere a grupos alquilo cíclicos de, por ejemplo, de 3 a 10 o de 3 a 8 átomos de carbono que tienen un único anillo cíclico o múltiples anillos condensados. Dichos grupos cicloalquilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras de anillo único tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo y similares, o estructuras con múltiples anillos tales como adamantilo y similares. El cicloalquilo puede estar sustituido o no sustituido. El grupo cicloalquilo puede ser monovalente o divalente y puede estar

10 opcionalmente sustituido como se describe para los grupos alquilo.

El término "arilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático derivado de la retirada de al menos un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema de anillo aromático original. El sitio de unión del radical puede estar en un átomo de carbono saturado o insaturado del sistema de anillo original. El grupo arilo puede tener de 6 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, aproximadamente 6-10 átomos de

15 carbono. El grupo arilo puede tener un anillo único (p. ej., fenilo) o múltiples anillos condensados (fusionados), en los que al menos un anillo es aromático (p. ej., naftilo, dihidrofenantrenilo, fluorenilo o antrilo). Los grupos arilo típicos incluyen, pero sin limitación, radicales derivados de benceno, naftaleno, antraceno, indenilo, bifenilo y similares. El arilo puede estar no sustituido u opcionalmente sustituido, como se describe para los grupos alquilo.

20 El término "halo" o "haluro" se refiere a fluoro, cloro, bromo o yodo. De forma similar, el término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "sustituido" indica que uno o más átomos de hidrógeno en el grupo indicado en la expresión que usa "sustituido" se reemplaza por un "sustituyente". El número al que se refiere "uno o más" puede resultar evidente a partir del resto en el que residen los sustituyentes. Por ejemplo, uno o más pueden referirse a, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o 6; en algunas realizaciones 1, 2 o 3; y en otras realizaciones 1 o 2, y si el sustituyente es un grupo oxo, dos átomos de hidrógeno se reemplazan por la presencia del sustituyente. El sustituyente puede ser uno de una selección de grupos indicados, o puede ser un grupo adecuado mencionado a continuación o conocido por los expertos en la materia, siempre que no se exceda la valencia normal del átomo sustituido y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Los grupos sustituyentes adecuados incluyen, p. ej., alquilo, alqueno (p. ej., vinilo o alilo), alquino, alcoxi, halogeno, halogenoalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, arilo, aroilo, (aril)alquilo (p. ej., bencilo o feniletilo), heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, alcanóilo, alcocarbonilo, alquilcarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, trifluorometilo, trifluorometoxi, trifluorometilitio, difluorometilo, acilamino, nitro, carboxi, carboxialquilo, ceto, tioxo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, heterociclosulfonilo, fosfato, sulfato, hidroxilamina, hidroxil(alquil)amina y ciano, así como los restos ilustrados en los esquemas y figuras de esta divulgación; o combinaciones de los mismos. Además, pueden ser grupos sustituyentes adecuados, p. ej., -X, -R, -O⁻, -OR, -SR, -S⁻, -NR₂, -NR₃, =NR, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NC(=O)R, -C(=O)R, -C(=O)NRR, -S(=O)₂O⁻, -S(=O)₂OH, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NR, -S(=O)R, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -OP(=O)(OH)(OR), -P(=O)(OH)(OR), -P(=O)(O⁻)₂, -P(=O)(OH)₂, -C(=O)R, -C(=O)X, -C(S)R, -C(O)OR, -C(O)O⁻, -C(S)OR, -C(S)SR, -C(O)NRR, -C(S)NRR, o -C(NR)NRR, donde cada X es independientemente un halógeno ("halógeno"): F, Cl, Br o I; y cada R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, arilo, (aril)alquilo (p. ej., bencilo), heteroarilo, (heteroaril)alquilo, heterociclo, heterociclo(alquilo) o un grupo protector. Como entenderá fácilmente un experto en la materia, cuando un sustituyente es ceto (=O) o tioxo (=S), o similares, entonces se reemplazan dos átomos de hidrógeno en el átomo sustituido. En algunas realizaciones, uno o más sustituyentes anteriores pueden excluirse del grupo de valores potenciales para sustituyentes en el grupo sustituido. Los diversos grupos R en los esquemas y figuras de esta divulgación pueden ser uno o más de los sustituyentes mencionados anteriormente, por lo que el listado de ciertas variables para tales grupos R (incluidos R¹, R², R³, etc.) es representativo y no es exhaustivo y puede complementarse y/o sustituirse por uno o más de los sustituyentes anteriores.

55 El término "puesta en contacto" se refiere al acto de tocar, hacer contacto, llevar a una cercanía inmediata o próxima, incluyendo a nivel celular o molecular, por ejemplo, para provocar una reacción fisiológica, una reacción química o un cambio físico, p. ej., en una solución, en una mezcla de reacción, *in vitro*, o *in vivo*.

Una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad eficaz para tratar una enfermedad, un trastorno y/o una afección, o para provocar un efecto mencionado. Por ejemplo, una cantidad eficaz puede ser una cantidad eficaz para reducir la progresión o la gravedad de la afección o de los síntomas que se estén tratando. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la materia. El término "cantidad eficaz" pretende incluir una cantidad de un compuesto descrito en el presente documento, o una cantidad de una combinación de compuestos descritos en el presente documento que, p. ej., es eficaz para tratar o prevenir una enfermedad o un trastorno, o para tratar los síntomas de la enfermedad o el trastorno, en un hospedador. Por tanto, una "cantidad eficaz" generalmente significa una cantidad que proporciona el efecto deseado.

Los métodos de tratamiento no forman parte de la invención reivindicada. Los términos "tratando", "tratar" y "tratamiento" pueden incluir (i) prevenir que suceda una enfermedad o una afección médica o patológica (p. ej., profilaxis); (ii) inhibir la enfermedad o la afección médica o patológica, o detener su desarrollo; (iii) aliviar la enfermedad o la afección médica o patológica; y/o (iv) reducir los síntomas asociados con la enfermedad o la afección médica o patológica. Por tanto, los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se pueden extender a la profilaxis y pueden incluir prevenir, la prevención de, prevenir, reducir, detener o revertir la progresión o la gravedad de la afección o los síntomas que se están tratando. Como tal, el término "tratamiento" puede incluir la administración médica, terapéutica y/o profiláctica, según convenga.

Como se usa en el presente documento, "sujeto" o "paciente" significa un individuo que tiene síntomas o riesgo de una enfermedad u otra neoplasia maligna. Un paciente puede ser humano o no humano y puede incluir, por ejemplo, cepas o especies animales usadas como "sistemas modelo" con fines de investigación, tal como un modelo de ratón como se describe en el presente documento. Asimismo, el paciente puede incluir adultos o jóvenes (p.ej., niños). Además, paciente puede referirse a cualquier organismo vivo, preferiblemente un mamífero (p.ej., humano o no humano) que pueda beneficiarse de la administración de las composiciones contempladas en el presente documento. Los ejemplos de mamíferos incluyen, pero sin limitación, cualquier miembro de la clase Mammalia: seres humanos y primates no humanos tales como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja tales como ganado, caballos, ovejas, cabras, cerdos; animales domésticos tales como perros y gatos; animales de laboratorio incluidos roedores tales como ratas, ratones y conejillos de Indias, y similares. Los ejemplos de no mamíferos incluyen, pero sin limitación, pájaros, peces y similares. En una realización de los métodos proporcionados en el presente documento, el mamífero es un ser humano.

Como se usan en el presente documento, "proporcionar", "administrar", "introducir" se usan en forma intercambiable en el presente documento y hacen referencia a la colocación de las composiciones de la divulgación en un sujeto mediante un método o vía que dé como resultado la localización al menos parcial de la composición en un sitio deseado. Las composiciones se pueden administrar por cualquier vía apropiada que dé como resultado la entrega en una ubicación deseada en el sujeto.

El término "célula cancerosa" pretende abarcar definiciones como se entienden ampliamente en la materia. En una realización, el término se refiere a una célula anormalmente regulada que puede contribuir a una afección clínica de cáncer en un ser humano o animal. En una realización, el término puede referirse a una estirpe celular cultivada o una célula dentro o derivada de un cuerpo humano o animal. Una célula cancerosa puede ser de una amplia variedad de tipos diferenciados de células, tejidos u órganos como se entiende en la materia. Las células cancerosas pueden dar como resultado la formación de un tumor. El término "tumor" se refiere a una neoplasia, típicamente una masa que incluye una pluralidad de células malignas agregadas. Pueden tratarse cáncer de diversos tipos (p. ej., los mencionados en el presente documento) y los tumores resultantes mediante los atropisómeros descritos en el presente documento.

Los términos "inhibir", "inhibiendo" e "inhibición" se refieren al ralentizamiento, la detención, o la reversión del crecimiento o la progresión de una enfermedad, una infección, una afección o un grupo de células. La inhibición puede ser mayor de aproximadamente 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 90 %, 95 % o 99 %, por ejemplo, en comparación con el crecimiento o la progresión que se producen en ausencia del tratamiento o la puesta en contacto.

El término "atropisómeros" se refiere a estereoisómeros conformacionales que se producen cuando se previene, o se inhibe en gran medida, la rotación alrededor de un enlace simple en la molécula, como resultado de interacciones estéricas con otras partes de la molécula y los sustituyentes en ambos extremos del enlace simple son asimétricos, es decir, la actividad óptica surge sin requerir un centro de carbono o estereocentro asimétrico. Cuando la barrera rotacional alrededor del enlace simple es lo suficientemente alta y la interconversión entre conformaciones es lo suficientemente lenta, la separación y el aislamiento de las especies isoméricas a menudo se pueden conseguir mediante técnicas de separación estándares tales como la HPLC. Los atropisómeros son enantiómeros que no requieren un solo átomo asimétrico. Los atropisómeros se consideran estables si la barrera a la interconversión es lo suficientemente alta como para permitir que los atropisómeros experimenten poca o ninguna interconversión a temperatura ambiente durante al menos una semana, preferiblemente al menos un año. En algunas realizaciones, un compuesto atropisomérico como se describe en el presente documento no experimenta más de aproximadamente un 5 % de interconversión con su atropisómero opuesto a temperatura ambiente durante una semana cuando el compuesto atropisomérico está en forma sustancialmente pura, que generalmente es un estado sólido. En algunas realizaciones, un compuesto atropisomérico no experimenta más de aproximadamente un 5 % de interconversión con su atropisómero opuesto a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) durante un año. Preferiblemente, los compuestos atropisoméricos son lo suficientemente estables como para experimentar no más de aproximadamente un 5 % de interconversión en una formulación farmacéutica acuosa mantenida a 0 °C durante al menos una semana.

La barrera de energía a la racemización térmica de atropisómeros se puede determinar mediante el impedimento estérico a la libre rotación de un enlace que forma un eje quiral. Algunos compuestos de biarilo exhiben atropisomerismo donde la rotación alrededor de un enlace interanular que carece de simetría C₂ está restringida. La barrera de energía libre para la isomerización (enantiomerización) es una medida de estabilidad del enlace interanular con respecto a la rotación. La excitación óptica y/o térmica puede promover la racemización de tales isómeros, dependiendo de factores electrónicos y estéricos.

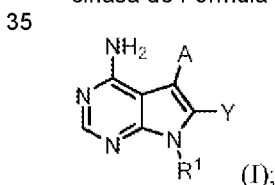
El término "atropisómero conformacionalmente estable" se refiere a un atropisómero que es conformacionalmente estable de tal modo que tiene una barrera a la rotación de al menos aproximadamente 25 kcal/mol, al menos aproximadamente 26 kcal/mol o al menos aproximadamente 27 kcal/mol. La estabilidad de un atropisómero conformacionalmente estable es tal que su t_{1/2} a 37 °C es al menos aproximadamente 8 días, al menos aproximadamente 10 días, al menos aproximadamente 12 días, al menos aproximadamente 15 días, al menos aproximadamente 18 días, al menos aproximadamente 150 días, o al menos aproximadamente 300 días. Por tanto, un atropisómero conformacionalmente estable es estereoquímicamente estable a temperatura ambiente.

El término "resto bloqueante rotacional de atropisomerismo" es un grupo que, cuando se une covalentemente a un resto fenilo rotatorio de un inhibidor de cinasa, aumenta la barrera a la rotación del resto fenilo de tal modo que la molécula se convierte en un atropisómero que es conformacionalmente estable, como se describió anteriormente.

Realizaciones de la invención

La invención proporciona un atropisómero conformacionalmente estable de un inhibidor de cinasa basado en pirrolopirimidina en el que la selectividad del atropisómero está modulada en comparación con el correspondiente inhibidor de cinasa original de interconversión rápida, en el que el inhibidor de cinasa basado en pirrolopirimidina comprende un resto bloqueante rotacional de atropisomerismo en un resto fenilo rotatorio del inhibidor de cinasa original que estabiliza conformacionalmente el atropisómero que tiene selectividad de cinasa modulada. El atropisómero puede tener un aumento de al menos 3 veces en la selectividad hacia una cinasa específica en comparación con el inhibidor de cinasa correspondiente que carece del resto bloqueante rotacional de atropisomerismo.

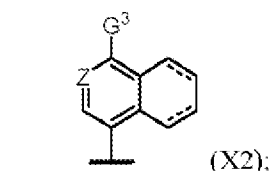
La invención proporciona el atropisómero conformacionalmente estable y compuesto inhibidor selectivo de cinasa de Fórmula I:



o una sal o solvato del mismo;

40 en la que

A es un resto de Fórmula X2:



G³ es H, metilo, etilo o NH₂;

Y es fluoro, cloro, bromo, NH₂, -alquilo (C₁-C₄) o -CH₂N(R^B)₂;

50 Z es CH o N;

----- es un enlace arilo;

55 R¹ es -alquilo (C₁-C₈), -cicloalquilo (C₁-C₈), piperidina o -fenilo(Q), en el que el -alquilo (C₁-C₈) es ramificado o no ramificado;

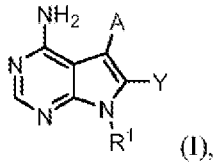
cada R^B es independientemente H, -alquilo (C₁-C₄), -C(=O)(alquilo C₁-C₄) o -C(=O)(CH₂)Cl; y

Q es H, metilo, etilo, fluoro, cloro o bromo, en el que Q está en la posición *orto*-, *meta*- o *para*- del resto -fenilo(Q),

5

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (*R*).

La invención también proporciona un compuesto de Fórmula I:



o una sal o solvato del mismo;

en la que

15

A es isoquinolilo;

Y es metilo; y

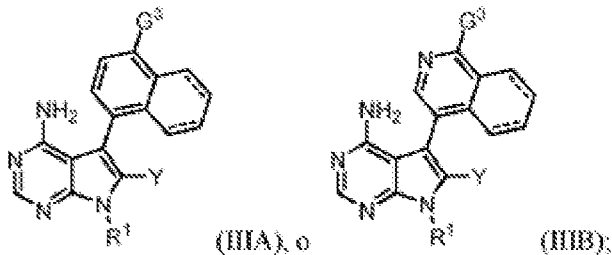
20

R¹ es *t*-butilo;

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (*R*) o una configuración (*S*).

En otras realizaciones más, el atropisómero es un compuesto inhibidor selectivo de cinasa de Fórmula IIIA o Fórmula IIIB:

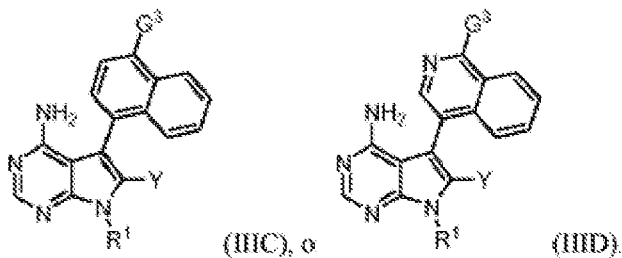
25



en la que ----- es un enlace arilo y R¹ es *tert*-butilo o isopropilo, o ciclopentilo.

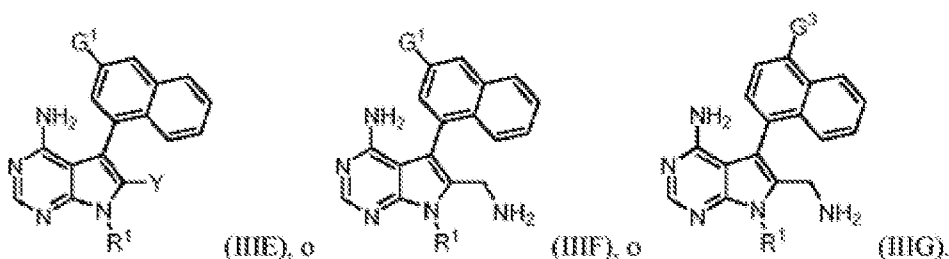
30

En otras realizaciones más, el atropisómero es un compuesto inhibidor selectivo de cinasa de Fórmula IIIC o Fórmula IIID:



35

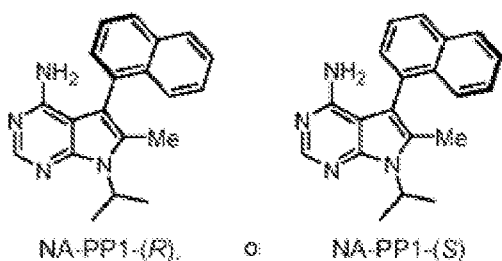
En otras realizaciones más, el atropisómero es un compuesto inhibidor selectivo de cinasa de Fórmula IIIE, Fórmula IIIF o Fórmula IIIG:



en las que el resto nafilo es un resto bloqueante rotacional de atropisomerismo.

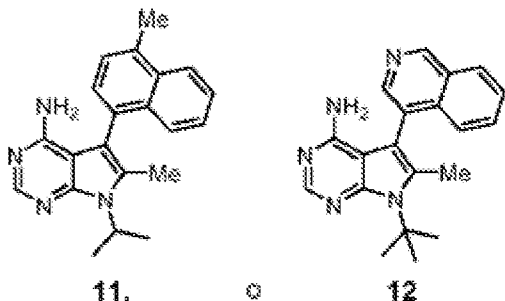
- 5 En algunas realizaciones, G¹ es H, fluoro, metilo, metoxi, etoxi o trifluorometoxi; G³ es H, fluoro, metilo, metoxi, etoxi o trifluorometoxi; R¹ es *terc*-butilo o *iso*-propilo; e Y es cloro, metilo, etilo o -CH₂N(R^B)₂, en la que cada R^B es independientemente H, metilo o etilo. En otras realizaciones más, G¹ es H, fluoro, metilo, metoxi o etoxi; y G³ es H, fluoro, metilo, metoxi o etoxi.

- 10 En realizaciones adicionales, el atropisómero es:



En otras realizaciones más, el atropisómero es el compuesto 11 o 12 (véase la Tabla 4):

- 15



- 20 En diversas realizaciones, R¹ es metilo, ciclopropilo, ciclopentilo, *terc*-butilo, *iso*-pentilo o fenilo. En una realización específica, R¹ es *iso*-propilo. En otra realización específica, R¹ es *terc*-butilo. En otra realización específica, R¹ es *iso*-pentilo. En algunas realizaciones, R^B es H. En otras realizaciones, R^B es Me. En otras realizaciones más, R^B es Et. En algunas realizaciones, Y es fluoro, cloro, bromo o metilo. En una realización específica, Y es cloro. En otra realización específica, Y es bromo. En otra realización específica, Y es metilo. En ciertas realizaciones, X es cloro o bromo. El compuesto es un atropisómero conformacionalmente estable y un inhibidor selectivo de cinasa.

- 25

- 30 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un atropisómero de fórmula I o fórmula IIIA, IIIB, IIIC y IIID en combinación con un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición puede consistir en sólo un atropisómero. Por ejemplo, la composición puede incluir un atropisómero que está al menos aproximadamente un 95 % o al menos aproximadamente un 99 % en la configuración (R), o al menos aproximadamente un 95 % o al menos aproximadamente un 99 % en la configuración (S).

- 35 La invención proporciona además el compuesto de Fórmula I para su uso en un método terapéuticamente eficaz de un atropisómero descrito en el presente documento, inhibiendo así el crecimiento de las células cancerosas en el mamífero.

En otras realizaciones, la invención proporciona el compuesto de Fórmula I para su uso en un método para inhibir el crecimiento de células cancerosas que comprende poner en contacto células cancerosas con una

cantidad eficaz del atropisómero divulgado, inhibiendo así el crecimiento de las células cancerosas.

5 En una realización, el atropisómero es el atropisómero (*R*) y el atropisómero es selectivo para la cinasa RET, la cinasa YES o una combinación de las mismas. Las células cancerosas pueden ser células cancerosas que causan tumores del estroma gastrointestinal (GIST), cáncer medular de tiroides, cáncer de mama ER positivo o cáncer de pulmón no microcítico. En otras realizaciones, las células cancerosas pueden ser células cancerosas que causan melanoma, cáncer de mama o rhabdomiosarcoma.

10 En otra realización, el atropisómero es el atropisómero (*S*) y el atropisómero es selectivo para la cinasa SRC, la cinasa ABL, la cinasa YES o una combinación de las mismas. Las células cancerosas pueden ser células cancerosas que causan cáncer de mama, cáncer de colon o cáncer de próstata. En otras realizaciones, las células cancerosas pueden ser células cancerosas que causan leucemia mieloide crónica. En otra realización más, las células cancerosas pueden ser células cancerosas que causan melanoma, cáncer de mama o rhabdomiosarcoma.

15 Por tanto, la invención proporciona los compuestos de Fórmula I para su uso en un método terapéuticamente eficaz de un atropisómero descrito en el presente documento, tratando así el cáncer en el mamífero. El cáncer puede ser, por ejemplo, uno de los cánceres descritos en el presente documento, en el que el inhibidor de cinasa es selectivo para una cinasa que promueve o exagera el crecimiento o la estabilidad de las células cancerosas.

20 En realizaciones adicionales, esta divulgación proporciona los compuestos divulgados para su uso en el tratamiento de un cáncer que comprende administrar a un mamífero que tiene cáncer una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, tratando así el cáncer en el mamífero. En otras realizaciones, el cáncer es un tumor del estroma gastrointestinal, cáncer medular de tiroides, cáncer de mama o cáncer de mama ER positivo, cáncer de pulmón no microcítico, melanoma, rhabdomiosarcoma, cáncer de colon, cáncer de próstata o leucemia mieloide crónica.

30 Adicionalmente, también se divulga en el presente documento, pero no forma parte de la invención, un método para modular la selectividad de un inhibidor de cinasa promiscuo que comprende un resto fenilo rotatorio que comprende añadir un resto bloqueante rotacional de atropisomerismo al resto fenilo del inhibidor, aumentando o disminuyendo así la selectividad del inhibidor de cinasa para cinasas específicas. El inhibidor de cinasa puede ser, por ejemplo, un inhibidor de cinasa basado en pirrolopirimidina, por ejemplo, un inhibidor de cinasa como se describe en el presente documento.

35 Esta divulgación proporciona intervalos, límites y desviaciones de variables tales como volumen, masa, porcentajes, relaciones, etc. Una persona común experta en la materia entenderá que un intervalo, tal como "número1" a "número2", implica un intervalo continuo de números que incluye números enteros y fraccionarios. Por ejemplo, de 1 a 10 significa 1, 2, 3, 4, 5, ... 9, 10. También significa 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, ..., 9,8, 9,9, 10,0, y también significa 1,01, 1,02, 1,03 y demás. Si la variable divulgada es un número menor de "número10", implica un intervalo continuo que incluye números enteros y números fraccionarios menores de número10, como se ha discutido anteriormente. De manera similar, si la variable divulgada es un número mayor de "número10", implica un intervalo continuo que incluye números enteros y números fraccionarios mayores de número10. Estos intervalos pueden verse modificados por el término "aproximadamente", cuyo significado se ha descrito anteriormente.

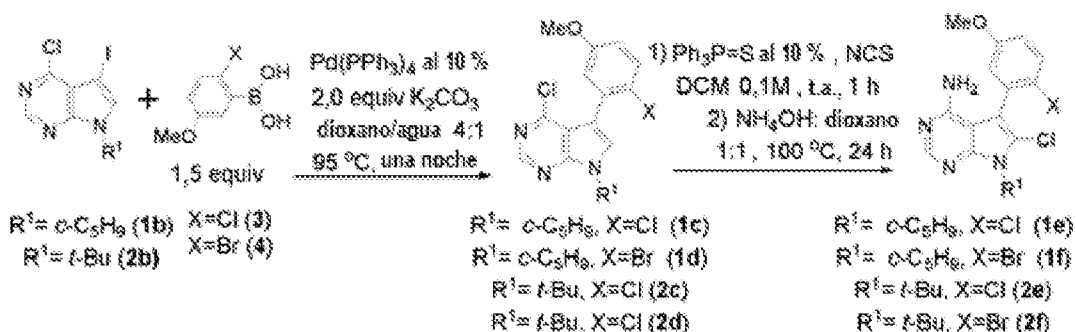
Compuestos atropisoméricos y selectividad

50 Como el atropisomerismo de interconversión rápida es ubicuo en todos los inhibidores de cinasas (Figura 1A), se evaluó el atropisomerismo como una estrategia para mejorar la selectividad de los inhibidores de cinasa promiscuos. Para estos estudios iniciales, se eligieron inhibidores de cinasa basados en pirrolopirimidina (PPY) porque representan un armazón inhibidor de cinasa común y promiscuo que a menudo posee al menos un eje atropisomérico (Figura 1B). Además, la identificación de análogos de PPY que tengan una selectividad de cinasa mejorada puede proporcionar puntos de partida interesantes para el descubrimiento de fármacos y sondas químicas valiosas para la investigación de las rutas de señalización de las cinasas. Fundamentalmente, los PPY representan una plataforma atractiva pero desafiante para este trabajo, ya que mientras que el análisis cristalográfico (es decir, PDB: 1YOL) sugiere que pueden unirse a cinasas de maneras específicas de atropisómero, los PPY se basan principalmente en interacciones conservadas entre el sitio activo de la cinasa y el heterociclo "similar a la adenina" para la potencia.

60 Se desarrolló una síntesis simple de análogos de PPY rigidados atropisoméricamente (Esquema 1) a partir de pirrolopirimidinas *N*-alquiladas fácilmente disponibles. La elección de la *N*-sustitución se basó en trabajos previos sobre PPY (Altmann et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 849-852) e inhibidores de cinasa relacionados (es decir PP1) (Liu et al., Chem. Biol. 1999, 6, 671-8). La halogenación catalizada por sulfuro de fosfina recientemente divulgada (Maddox, Nalbandian, Smith y Gustafson, Org. Lett. 2015, 17, 1042-1045) resultó crucial a lo largo de esta síntesis, ya que facilitó la yodación del núcleo de PPY (para dar 1b y 2b), la

halogenación con ácido borónico (para dar 3 y 4), y la cloración clave de última fase del núcleo de PPY para rigidar el eje en la penúltima etapa. La sustitución aromática nucleófila del 6-Cl con amoníaco condujo a análogos racémicos de PPY (compuestos solo de referencia 1e, 1f, 2e, 2f).

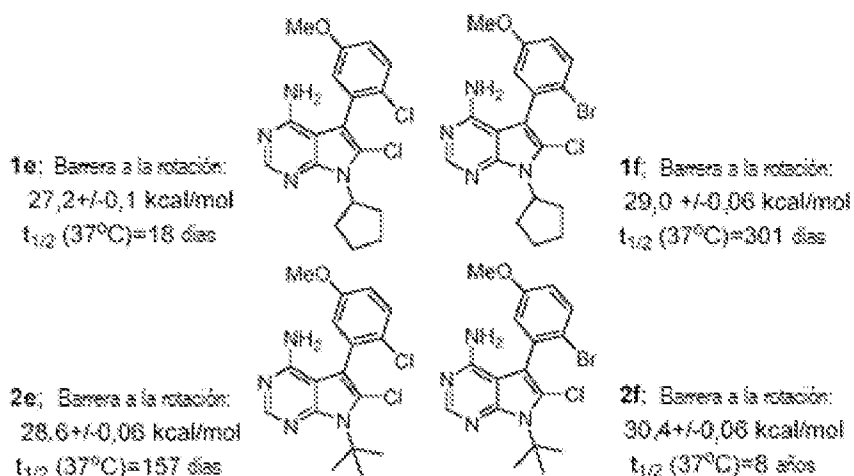
5 Esquema 1. Síntesis de inhibidores de cinasa PPY atropisoméricamente estables (solo referencia)



- 10 La sustitución de cloro demostró ser suficientemente grande para hacer que el eje sea estereoquímicamente estable a temperatura ambiente, y cada atropisómero se obtuvo usando HPLC semipreparativa quiral (Figura 2A). Un grupo bloqueante suficientemente grande, tal como el cloro, se denomina en el presente documento resto bloqueante rotacional de atropisomerismo. El dicroísmo circular confirmó que los picos aislados eran de hecho atropisómeros enantioméricos (Figura 2B), y la cristalografía de rayos X reveló que el primer atropisómero eluido de 1f estaba en la configuración (R) (Figura 2C). Como cada serie es estructuralmente similar y se separaron usando condiciones de HPLC comparables, las conformaciones de 1e, 2e y 2f se asignaron por analogía.
- 15

- La barrera a las rotaciones se midió experimentalmente de cada serie mediante HPLC (Barrett et al., Nature 2014, 509, 71-75) observando estabilidades estereoquímicas que varían de 8 días a 8 años a temperatura fisiológica. Curiosamente, se encontró que el tamaño estérico de la N-sustitución (R^1) distal al eje tenía un efecto claro sobre la barrera a la rotación, con la sustitución de *tert*-butilo aumentando la barrera a la rotación en 1,2-1,5 kcal/mol frente a la sustitución de ciclopentilo, lo que da como resultado un cambio en la estabilidad estereoquímica a 37 ° de 18 días para 1e a 157 días para 2e (Esquema 2). Esta tendencia es una manifestación del "efecto de refuerzo" (Bringmann et al., Angew. Chemie Int. Ed. 2005, 44, 5384-5427) y representa una estrategia para aumentar las estabilidades estereoquímicas cuando sea necesario.
- 20
- 25

Esquema 2. Barreras a la rotación medidas experimentalmente y $t_{1/2}$ extrapolado para racemización a 37 °C



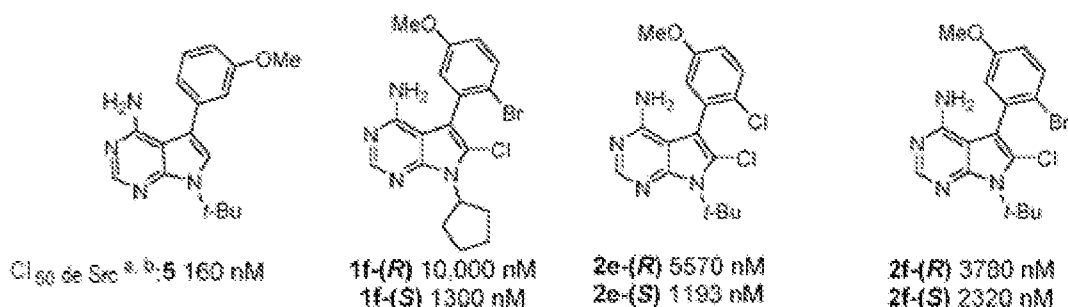
- 30 En base a las estabilidades estereoquímicas observadas, se eligieron 1f, 2e y 2f para estudios adicionales y se obtuvieron datos de inhibición contra la cinasa Src del ensayo de cinasa Z'-LYTE™ de Life Technologies (Esquema 3). Mientras que los análogos atropisoméricos eran aproximadamente 7-14 veces menos potentes que una molécula "original" no rigidada 5, los atropisómeros manifestaban potencias diferenciales sorprendentes. Por ejemplo, mientras que el segundo atropisómero eluido (S) de 1f poseía una Cl_{50} de 1.300 nM, el primer atropisómero eluido (R) manifestaba una potencia significativamente menor con una Cl_{50} mayor
- 35

de 10.000 nM. La tendencia del primer atropisómero eluido que posee una actividad inhibitora de Src atenuada en comparación con el 2º pico de elución se mantuvo a lo largo de cada serie analizada, lo que presta mayor credibilidad a la asignación conformacional basada en la estructura cristalina de rayos X de 1f.

- 5 Para probar el efecto de la conformación atropisomérica sobre la selectividad de la cinasa, se sometieron 1f, 2e y 2f a caracterización del perfil inhibitor de cinasa mediante un panel de tirosina cinasas a 1000 nM y 5000 nM (los datos para 2e se muestran en la Tabla 1 a continuación).

Esquema 3. Actividades inhibitoras de cinasa Src diferenciales entre atropisómeros (solo referencia)

10



^a Datos obtenidos en Life Technologies usando la plataforma de inhibición de la cinasa Z'-LYTE.

- 15 ^b Los datos son el promedio de 2 rondas.

Por tanto, la invención proporciona inhibidores selectivos de cinasa en los que un atropisómero (S) o un atropisómero (R) es selectivo para una cinasa de la Tabla 1, por ejemplo, en los que el atropisómero proporciona al menos 50 % de inhibición, al menos 70 % de inhibición o al menos 80 % de inhibición. La invención también proporciona inhibidores selectivos de cinasa en los que un atropisómero (S) es selectivo para una cinasa de la Tabla 1 y proporciona al menos 20 %, al menos 30 % o al menos 35 % más de selectividad para la cinasa en comparación con el atropisómero (R), a una concentración particular, o viceversa.

20

- 25 La mayoría de las cinasas en el panel prefirieron el atropisómero (S) en diversos grados; sin embargo, la comparación del perfil de inhibición de cinasa de cada atropisómero reveló algunas selectividades diferenciales fascinantes. Por ejemplo, el atropisómero (R) de 2e era menos activo hacia Src que el atropisómero (S), pero inhibía la cinasa Ret, una diana farmacológica validada para numerosos cánceres, incluido el cáncer medular de tiroides, en un grado significativamente mayor que el atropisómero (S) (73 % frente a 32 % a 5000 nM, Tabla 1). Por el contrario, el atropisómero (S) inhibía la cinasa Abl en un grado significativamente mayor que el atropisómero (R) (67 % frente a 26 % a 5000 nM, Tabla 1).

30

También se realizó el experimento de caracterización de perfiles con la molécula "original" más potente 5, aunque en concentraciones más bajas para tener en cuenta su mayor potencia (200 nM y 1000 nM), encontrando que 5 poseía casi panactividad para el panel de tirosina cinasa probado, incluyendo una actividad significativa hacia las cinasas Src, Ret y Abl.

35

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de los atropisómeros 2e y el compuesto "original" 5 en un panel de tirosina cinasas a 2 concentraciones (solo referencia).

| Cinasa ^a | % de inhibición de 200 nM ^b | % de inhibición de 1000 nM ^b | % de inhibición de 1000 nM ^b | % de inhibición de 5000 nM ^b | % de inhibición de 1000 nM ^b | % de inhibición de 5000 nM ^b | SIR (5000 nM) ^d |
|---------------------|--|---|---|---|---|---|----------------------------|
| Abl | 37 % | 78 % | 11 % | 26 % | 36 % | 67 % | 2,57 |
| Alk | 11 % | 23 % | 6 % | 18 % | 5 % | 7 % | 0,38 |
| Blk | 38 % | 74 % | 3 % | 32 % | 21 % | 47 % | 1,46 |

| | | | | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| BTK | 62 % | 90 % | 10 % | 29 % | 18 % | 54 % | 1,86 |
| CSK | 36 % | 65 % | 21 % | 35 % | 19 % | 45 % | 1,28 |
| EGFR | 28 % | 62 % | -4 % | 0 % | 10 % | 21 % | --- |
| Her-2 | 4 % | 16 % | -2 % | 0 % | -7 % | 0 % | --- |
| Fgr | 69 % | 92 % | 45 % | 77 % | 58 % | 81 % | 1,05 |
| Fyn | 56 % | 84 % | 19 % | 44 % | 26 % | 56 % | 1,27 |
| Hck | 59 % | 80 % | 24 % | 40 % | 32 % | 50 % | 1,25 |
| Kit | 8 % | 27 % | 5 % | 26 % | 18 % | 36 % | 1,38 |
| Lck | 32 % | 79 % | 23 % | 51 % | 26 % | 54 % | 1,05 |
| Lyn | 58 % | 85 % | 19 % | 57 % | 36 % | 75 % | 1,31 |
| pdgfr-a | 11 % | 34 % | 3 % | 8 % | 3 % | 13 % | 1,63 |
| pdgfr-b | 6 % | 19 % | 4 % | 13 % | 13 % | 16 % | 1,23 |
| Ret | 59 % | 89 % | 35 % | 73 % | 14 % | 32 % | 0,44 |
| Yes | 63 % | 90 % | 53 % | 79 % | 53 % | 77 % | 0,97 |
| S(40%) ^c | 0,44 | 0,72 | 0,11 | 0,44 | 0,16 | 0,61 | --- |

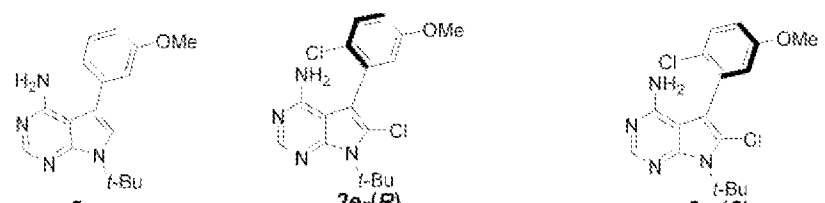
^a Datos obtenidos en Life Technologies usando la plataforma de inhibición de la cinasa Z'-LYTE.

^b Los datos son el promedio de 2 rondas. ^c Número de cinasas inhibidas en más del 40 % dividido por el número de cinasas probadas (incluida Src). ^d % de inhibición de 2e-(S) / % de inhibición de 2e-(R).

Para analizar la selectividad de cada análogo en todo el panel, se usaron puntuaciones de selectividad (Davis et al., Nat. Biotechnol. 2011, 29, 1046-51), que son simplemente el número de cinasas inhibidas por encima de un cierto umbral dividido por el número de cinasas evaluadas. En general, el atropisómero (R) era más selectivo e inhibía un porcentaje menor de las cinasas analizadas en un grado intermedio (definido como una inhibición mayor de 40 %). Por ejemplo, a 1000 nM, 2e-(R) procuraba un S(40%) de 0,11, mientras que 2e-(S) daba un S(40%) de 0,16. La molécula original 5 era menos selectiva a una concentración más baja de 200 nM dando un valor de S(40 %) de 0,44 (véase la Tabla 1). Las diferencias en selectividad entre 2e-(R) y 2e-(S) a 5000 nM (4,5 veces la CI₅₀ de 2e-(S) hacia Src) y para 5 a 1000 nM (6,25 veces la CI₅₀ de 5 hacia Src) se pueden ver gráficamente a través de tirosina cinasas (Figura 3). De manera importante, también se observaron tendencias similares en cada una de las series atropisoméricas probadas.

Se obtuvieron luego datos de CI₅₀ de las series 5 y 2e para un subconjunto de cinasas que manifestaban actividades atropisoméricas diferenciales (Src, EGFR, Ret, Abl, YES (Tabla 2)). Estos datos validaron los resultados de caracterización del perfil y también ayudaron a cuantificar la selectividad diferencial entre los atropisómeros.

Tabla 2. Datos de CI₅₀ de inhibidores de cinasa atropisoméricos (solo referencia).

| Cinasa | CI ₅₀ de 5 | CI ₅₀ de 5 en cinasa/CI ₅₀ de 5 en Yes |  | | | |
|--------|------------------------------|--|--|--|------------------------------|--|
| | | | CI ₅₀ de 2e-(R) | CI ₅₀ de 2e-(R) en cinasa/CI ₅₀ de 2e-(R) en Yes | CI ₅₀ de 2e-(S) | CI ₅₀ de 2e-(R) en cinasa/CI ₅₀ de 2e-(R) en Yes |
| Src | 151 +/- 9 nM ^b | 1,64 | 5570 +/- 907 nM ^b | 6,22 | 1193 +/- 170 nM ^b | 164 |
| EGFR | 641 +/- 54 nM ^b | 6,96 | >10.000 nM ^c | >10,0 | >10.000 nM ^c | >10,0 |
| Yes | 92 +/- 11 nM ^b | 1 | 895 +/- 90 nM ^b | 1 | 727 +/- 177 nM ^b | 1 |
| Ret | 128 +/- 3 nM ^b | 1,4 | 1857 +/- 482 nM ^b | 2,07 | 7659 +/- 754 nM ^b | 10,53 |
| Abl | 244,5 +/- 19 nM ^c | 2,65 | >10.000 nM ^c | 100 | 1432 +/- 210 nM ^c | 1,96 |

^aDatos obtenidos en Life Technologies usando la plataforma de inhibición de la cinasa Z'-LYTE. El error es la desviación estándar. ^b CI₅₀ determinada por triplicado. ^c CI₅₀ determinada por duplicado.

La molécula original 5 manifestaba poca selectividad hacia las cinasas probadas con selectividades relativas de 1,4-2,65 veces que favorecen a Yes (CI₅₀ en cinasa/CI₅₀ en YES) sobre Ret, Src y Abl, y una selectividad de 7 veces entre YES y EGFR. Al igual que con los datos de caracterización del perfil, los

análogos atropisoméricos poseían selectividades potenciadas en comparación con 5. Por ejemplo, 2e-(R) inhibía la cinasa Ret con una CI_{50} de 1857 nM, pero poseía una potencia reducida hacia Abl y Src (10.000 nM y 5570 nM), lo que representa un aumento de 4 veces de la selectividad inherente de 5 hacia estas cinasas. Por el contrario, la configuración (S) era menos potente hacia Ret (7659 nM, un aumento de casi 8 veces la selectividad inherente de 5), mientras que mantenía la actividad hacia Src y Abl (1193 nM y 1432 nM). En general, estos datos demuestran que diferentes miembros de familias de enzimas altamente conservadas, tales como las cinasas, pueden preferir diferentes conformaciones de atropisómeros del mismo inhibidor, y que esto puede explotarse para modular la promiscuidad del inhibidor. Algunas cinasas en estos experimentos de caracterización del perfil no manifestaban selectividades diferenciales entre los atropisómeros. Por ejemplo, la actividad de EGFR se inactivaba en ambos atropisómeros, mientras que otras cinasas (Fgr, Yes) mantenían una actividad comparable hacia cada atropisómero, lo que sugiere que la conformación atropisomérica no influye significativamente en la unión en ciertas cinasas específicas.

Para conseguir una mejor comprensión de la base física de los efectos observados, se usó la modelización molecular. El compuesto 5 se acopló a estructuras conocidas de Ret, Src y EGFR unidas a ligandos que eran estructuralmente similares a los PPY. Este experimento predecía que Ret y Src se unirían a 5 en diferentes conformaciones atropisoméricas que coincidían con los datos observados y la asignación estructural. Asimismo, este experimento predecía que EGFR se uniría a ambas conformaciones atropisoméricas con muy poca diferencia en las puntuaciones de acoplamiento. En conjunto, estos experimentos ilustran que la existencia de una preferencia inherente de atropisómero se puede predecir *in silico*, lo que representa una herramienta que permite una valoración rápida de la utilidad de aplicar este enfoque a una diana cinasa particular.

También se examinó cada atropisómero de 2e. En Src, se predice que el atropisómero 2e-(S) encajará en el sitio de unión (Figura 4A) y contribuirá a las interacciones estabilizadoras con el Asp 406 vecino. El modo de unión de 2e-(S) es consistente con el de CGP77675 (PDB 1YOL), que forma los mismos enlaces de hidrógeno de pirrolopirimidina y tiene ángulos diédricos similares entre los dos sistemas de anillos de arilo, $57,25^\circ$ frente a $54,56^\circ$. Las poses de acoplamiento también sugieren que la preferencia por 2e-(S) puede surgir de ligeros choques estéricos entre el grupo metoxi en 2e-(R) (Figura 4B) con los residuos circundantes que no están cerca de él en 2e-(S).

En Ret, el atropisómero activo 2e-(R) tiene un modo de unión similar al de PP1 (PDB 2IVV) formando los mismos enlaces de hidrógeno de pirrolopirimidina y teniendo ángulos diédricos similares entre los dos sistemas de anillos de arilo, $-122,57^\circ$ frente a $-116,87^\circ$ (Figura 4D) y se predice que posee interacciones estabilizadoras con Asp 892, así como interacciones π con el Lys 758 vecino que no están presentes con 2e-(S) (Figura 4C). Adicionalmente, se predice que 2e-(S) tendrá un choque estérico entre el cloro y Asp 892 que causa que la pose de acoplamiento se desplace hacia arriba con respecto a la configuración de rayos X, tensando los enlaces de hidrógeno entre el anillo de pirrolopirimidina y los residuos Glu 805 y Ala 807 vecinos. Todos estos factores indican orígenes fisicoquímicos de la selectividad observada de 2e-(R) hacia Ret.

Un examen minucioso de las poses de 5-(S) y 5-(R) unidas en el bolsillo de unión de EGFR no predice ninguna interacción proteína-ligando adicional distinta de los dos enlaces de hidrógeno de pirrolopirimidina similares a los formados por ATP. Ambos atropisómeros parecen encajar bien en el sitio de unión sin choques estéricos aparentes. Por el contrario, parece haber choques estéricos significativos entre el grupo metoxi de 2e-(S) así como el cloro de 2e-(R) con los residuos vecinos en el sitio de unión de ATP. Esto es consistente con la pérdida de actividad observada. De manera interesante, los estudios de acoplamiento efectuados con la forma inactiva de EGFR (PDB 2GS7) daban como resultado una preferencia muy clara por 2e-(S).

Tomados en conjunto, los datos indican que se puede aprovechar el atropisomerismo para modular la selectividad de inhibidores de cinasa promiscuos. Mientras que algunos de los cambios observados en la selectividad entre 5 y cada atropisómero de 2e pueden deberse a la disminución de la potencia de los análogos, las diferencias en el perfil de cinasa en la Tabla 2 entre los atropisómeros, así como el aumento de selectividades de 2e (R) y (S) a concentraciones más altas que la de 5 sugiere que muchas de las diferencias observadas se deben al reconocimiento diferencial de proteínas hacia los atropisómeros.

Hasta donde sabemos, este trabajo representa uno de los primeros ejemplos de la rigidación estratégica de un armazón químico medicinal común y promiscuo alrededor de un eje de quiralidad para mejorar la selectividad de la diana. Los datos presentados ilustran fundamentalmente que en muchos casos el control de la conformación atropisomérica se puede aprovechar como estrategia general para mejorar el perfil de selectividad de los inhibidores de cinasa. Mientras que los efectos observados sobre la selectividad pueden ser modestos en comparación con las estrategias covalentes, los enfoques covalentes dependen inherentemente de sucesos relativamente raros en el sitio activo de la cinasa que limitan su implementación. Por otro lado, la ubicuidad del atropisomerismo en el descubrimiento de fármacos debería presentar amplias oportunidades para que se aplique como un enfoque más general, a menudo como parte de un

rompecabezas químico medicinal más amplio, para obtener inhibidores de cinasas más selectivos.

Métodos de síntesis generales

5 La divulgación también se refiere a métodos para elaborar los compuestos y composiciones de la divulgación. Los compuestos y composiciones se pueden preparar mediante cualquiera de las técnicas aplicables de síntesis orgánica, por ejemplo, las técnicas descritas en el presente documento. Muchas de estas técnicas son bien conocidas en la materia. Sin embargo, muchas de las técnicas conocidas se detallan en Compendium of Organic Synthetic Methods (John Wiley & Sons, Nueva York), vol. 1, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1971; vol. 2, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1974; vol. 3, Louis S. Hegedus y Leroy Wade, 1977; vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., 1980; vol. 5, Leroy G. Wade, Jr., 1984; y vol. 6, Michael B. Smith; así como textos de referencia orgánicos estándares tales como March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5ª edición por M.B. Smith y J. March (John Wiley & Sons, Nueva York, 2001), Comprehensive Organic Synthesis; Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry, en 9 volúmenes, Barry M. Trost, Ed. en jefe (Pergamon Press, Nueva York, impresión de 1993); Advanced Organic Chemistry, Parte B: Reactions and Synthesis, Segunda Edición, Cary y Sundberg (1983); Protecting Groups in Organic Synthesis, segunda edición, Greene, TW y Wutz, PGM, John Wiley & Sons, Nueva York; y Comprehensive Organic Transformations, Larock, RC, segunda edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999).

20 A continuación se proporcionan una serie de métodos ejemplares para la preparación de los compuestos de la divulgación. Estos métodos pretenden ilustrar la naturaleza de tales preparaciones y no pretenden limitar el alcance de los métodos aplicables.

25 Generalmente, las condiciones de reacción tales como temperatura, tiempo de reacción, disolventes, procedimientos de procesamiento y similares, serán aquellas comunes en la materia para la reacción particular que se va a efectuar. El material de referencia citado, junto con el material allí citado, contiene descripciones detalladas de tales condiciones. Típicamente, las temperaturas serán de -100 °C a 200 °C, los disolventes serán apróticos o próticos dependiendo de las condiciones requeridas y los tiempos de reacción serán de 1 minuto a 10 días. El procesamiento normalmente consiste en inactivar cualquier reactivo que no haya reaccionado, seguido del reparto entre un sistema de capas acuosa/orgánica (extracción) y la separación de la capa que contiene el producto.

35 Las reacciones de oxidación y reducción típicamente se llevan a cabo a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C), aunque para reducciones con hidruro metálico frecuentemente la temperatura se reduce de 0 °C a -100 °C. También se puede usar calentamiento cuando sea apropiado. Los disolventes son típicamente apróticos para las reducciones y pueden ser próticos o apróticos para las oxidaciones. Los tiempos de reacción se ajustan para conseguir las conversiones deseadas.

40 Las reacciones de condensación típicamente se llevan a cabo a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente, aunque para condensaciones no equilibradas, controladas cinéticamente, también son comunes temperaturas reducidas (0 °C a -100 °C). Los disolventes pueden ser próticos (comunes en reacciones de equilibrio) o apróticos (comunes en reacciones controladas cinéticamente). Las técnicas sintéticas estándares tales como la retirada azeotrópica de los subproductos de la reacción y el uso de condiciones de reacción anhidras (p. ej., entornos de gas inerte) son comunes en la materia y se aplicarán cuando sea aplicable.

50 Grupos protectores. El término "grupo protector" se refiere a cualquier grupo que, cuando se une a un hidroxilo u otro heteroátomo, previene que sucedan reacciones no deseadas en este grupo y que puede retirarse mediante etapas químicas o enzimáticas convencionales para restablecer el grupo hidroxilo. El grupo protector retirable particular empleado no siempre es crítico y los grupos bloqueantes de hidroxilo retirables preferidos incluyen sustituyentes convencionales tales como, por ejemplo, alilo, bencilo, acetilo, cloroacetilo, tiobencilo, bencilideno, fenacilo, metilmetoxi, éteres de sililo (p. ej., trimetilsililo (TMS), t-butildifenilsililo (TBDPS), o t-butildimetilsililo (TBS)) y cualquier otro grupo que pueda introducirse químicamente en una funcionalidad hidroxilo y retirarse luego selectivamente mediante métodos químicos o enzimáticos en condiciones suaves compatibles con la naturaleza del producto.

60 Los expertos en la materia conocen los grupos protectores de hidroxilo adecuados y se divulgan con más detalle en TW Greene, Protecting Groups In Organic Synthesis; Wiley: Nueva York, 1981 ("Greene") y las referencias allí citadas, y Kocienski, Philip J.; Protecting Groups (Georg Thieme Verlag Stuttgart, Nueva York, 1994).

65 Hay grupos protectores disponibles, comúnmente conocidos y usados, y se usan opcionalmente para prevenir reacciones secundarias con el grupo protegido durante procedimientos sintéticos, es decir, vías o métodos para preparar los compuestos mediante los métodos de la divulgación. En su mayor parte, la decisión sobre qué grupos proteger, cuándo hacerlo y la naturaleza del grupo químico protector "PG"

dependerá de la química de la reacción contra la que se protegerá (p. ej., ácida, básica, oxidativa, reductora u otras condiciones) y la dirección prevista de la síntesis.

Formulaciones farmacéuticas

5 Los compuestos descritos en el presente documento se pueden usar para preparar composiciones farmacéuticas terapéuticas, por ejemplo, mediante combinación de los compuestos con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable. Los compuestos pueden ser un único atropisómero, tal como los atropisómeros descritos en el presente documento. Los compuestos se pueden añadir a un portador en forma de una sal o un solvato. Por ejemplo, en los casos en los que los compuestos son los suficientemente ácidos o básicos como para formar sales ácidas o básicas estables no tóxicas, puede ser apropiada la administración de los compuestos como sales. Son ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables las sales de adición de ácidos orgánicos formadas con ácidos que forman un anión fisiológicamente aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y β -glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, que incluyen sales hidrocioruro, haluro, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato.

20 Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener usando procedimientos estándares bien conocidos en la materia, por ejemplo, mediante reacción de un compuesto lo suficientemente básico, tal como una amina, con un ácido adecuado para proporcionar un compuesto iónico fisiológicamente aceptable. También se pueden preparar mediante métodos análogos sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio) de ácidos carboxílicos.

25 Los compuestos de las fórmulas descritas en el presente documento se pueden formular como composiciones farmacéuticas y se pueden administrar a un hospedador mamífero, tal como un paciente humano, en una variedad de formas. Las formas se pueden adaptar específicamente a la vía de administración elegida, p. ej., administración oral o parenteral, por vía intravenosa, intramuscular, tópica o subcutánea.

30 Los compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar sistémicamente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un diluyente inerte o un portador comestible asimilable. Para administración oral, los vehículos se pueden encerrar en cápsulas de gelatina duras o blandas, se pueden comprimir en comprimidos o se pueden incorporar directamente al alimento de la dieta de un paciente. Los compuestos también se pueden combinar con uno o más excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Típicamente, tales composiciones y preparaciones contienen al menos un 0,1 % de compuesto activo. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede variar y puede ser, convenientemente, desde aproximadamente un 0,5 % hasta aproximadamente un 60 %, desde aproximadamente un 1 % hasta aproximadamente un 25 % o desde aproximadamente un 2 % hasta aproximadamente un 10 % del peso de una forma de dosificación unitaria dada. La cantidad de compuesto activo en tales composiciones terapéuticamente útiles puede ser tal que se obtenga un nivel de dosificación eficaz.

45 Los comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener uno o más de los siguientes: aglutinantes tales como goma tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; y un lubricante tal como estearato de magnesio. También se puede añadir un agente edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo; o un agente saborizante tal como menta piperita, aceite de gaulteria o saborizante de cereza. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un portador líquido, tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Puede haber presentes otros diversos materiales, tales como revestimientos u otras formas distintas de modificar la forma física de la forma de dosificación unitaria sólida. Por ejemplo, los comprimidos, las píldoras o las cápsulas se pueden revestir con gelatina, cera, laca, azúcar y similares. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa o fructosa como agente edulcorante, metilparabenos y propilparabenos como agentes de conservación, un colorante y un saborizante tal como uno con sabor a cereza o naranja. Cualquier material usado en la preparación de cualquier forma de dosificación unitaria debería ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, el compuesto activo se puede incorporar en preparaciones y dispositivos de liberación sostenida.

60 El compuesto activo se puede administrar por vía intravenosa o intraperitoneal mediante infusión o inyección. Se pueden preparar soluciones del compuesto activo o sus sales en agua, opcionalmente mezcladas con un tensioactivo no tóxico. Se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina o mezclas de los mismos, o en un aceite farmacéuticamente aceptable. En condiciones de uso y almacenamiento normales, las preparaciones pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

65 Las formas de dosificación farmacéuticas adecuadas para inyección o infusión pueden incluir soluciones

acuosas estériles, dispersiones, o polvos estériles que comprendan el ingrediente activo adaptado para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones aptas para infusión o inyectables estériles, opcionalmente encapsuladas en liposomas. La forma de dosificación final debería ser estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. El excipiente o portador líquido puede ser un disolvente o un medio de dispersión líquido que comprenda, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos y similares), aceites vegetales, ésteres de glicerilo no tóxicos y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez correcta se puede mantener, por ejemplo, mediante la formación de liposomas, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, o mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos se puede lograr mediante diversos agentes antifúngicos y/o antibacterianos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, o tiomersal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede lograr mediante agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y/o gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar mediante incorporación del compuesto activo, en la cantidad requerida, en el disolvente apropiado con diversos otros agentes anteriormente enumerados, según sea necesario, seguida opcionalmente de esterilización por filtración. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación pueden incluir técnicas de secado al vacío y liofilización, que produzcan un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado presente en la solución.

Para administración tópica, pueden aplicarse los compuestos en forma pura, p. ej. cuando son líquidos. Sin embargo, generalmente será deseable administrar el agente activo a la piel en forma de una composición o formulación, por ejemplo, en combinación con un portador dermatológicamente aceptable, que puede ser un sólido, un líquido, un gel o similares.

Los portadores sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos tales como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Los portadores líquidos útiles incluyen agua, dimetilsulfóxido (DMSO), alcoholes o glicoles o combinaciones de agua-alcohol/glicol en las que pueden disolverse o dispersarse los presentes compuestos a niveles eficaces, opcionalmente con la ayuda de tensioactivos no tóxicos. Pueden añadirse coadyuvantes, tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales para optimizar las propiedades para un uso dado. Las composiciones líquidas resultantes pueden aplicarse desde almohadillas absorbentes, usarse para impregnar vendajes y otros apósitos o pulverizarse sobre el área afectada usando pulverizadores de tipo bomba o aerosol.

También pueden emplearse espesantes, tales como polímeros sintéticos, ácidos grasos, sales y ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos, celulosas modificadas o materiales minerales modificados, con portadores líquidos para formar pastas, geles, pomadas, jabones y similares extensibles para aplicación directa a la piel del usuario.

En la materia se conocen ejemplos de composiciones dermatológicas para suministrar agentes activos a la piel; por ejemplo, véanse las patentes de EE. UU. n.º 4.992.478 (Geria), 4.820.508 (Wortzman), 4.608.392 (Jacquet et al.) y 4.559.157 (Smith et al.). Tales composiciones dermatológicas se pueden usar en combinaciones con los compuestos descritos en la presente memoria, donde un ingrediente de tales composiciones se puede reemplazar opcionalmente por un compuesto descrito en la presente memoria, o se puede añadir a la composición un compuesto descrito en la presente memoria.

Las dosificaciones útiles de los compuestos descritos en el presente documento se pueden determinar mediante comparación de su actividad *in vitro* y su actividad *in vivo* en modelos animales. Los métodos de extrapolación de las dosificaciones eficaces en ratones y otros animales a humanos se conocen en la materia; véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.938.949 (Borch et al.). La cantidad de un compuesto, o una sal activa o derivado de la misma, necesaria para su uso en el tratamiento variará, no solo con el compuesto concreto o la sal seleccionada, sino también con la vía de administración, la naturaleza de la afección que se está tratando y la edad y estado del paciente, y, en última instancia, será según criterio del médico o terapeuta encargado.

El compuesto puede administrarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, que contenga de 5 a 1000 mg/m², convenientemente de 10 a 750 mg/m², lo más convenientemente de 50 a 500 mg/m² de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria. La dosis deseada se puede presentar convenientemente en una dosis única o en dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, de dos, tres, cuatro o más subdosis al día. La subdosis en sí misma puede dividirse además en, p. ej., una serie de administraciones discretas libremente espaciadas.

La invención proporciona los compuestos de Fórmula I en modelos terapéuticos de tratamiento del cáncer en un mamífero, que implican la administración a un mamífero con cáncer de una cantidad eficaz de un

compuesto o composición descritos en el presente documento. Un mamífero incluye un primate, humano, roedor, canino, felino, bovino, ovino, equino, porcino, caprino, bovino y similares. Cáncer se refiere a cualquiera de los diversos tipos de neoplasias malignas, por ejemplo, cáncer de colon, cáncer de mama, melanoma y leucemia, y, en general, se caracteriza por una proliferación celular no deseable, p. ej., crecimiento no regulado, falta de diferenciación, invasión de tejidos locales y metástasis.

La capacidad de un compuesto de la invención para tratar el cáncer se puede determinar usando ensayos bien conocidos en la materia. Por ejemplo, se conocen el diseño de protocolos de tratamiento, evaluación de la toxicidad, análisis de datos, cuantificación de la destrucción de células tumorales, y la importancia biológica del uso del cribado de tumores trasplantables.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención anterior y no deben interpretarse como que restringen su alcance. La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

15 EJEMPLOS

Ejemplo 1. Preparación y caracterización de compuestos (solo referencia)

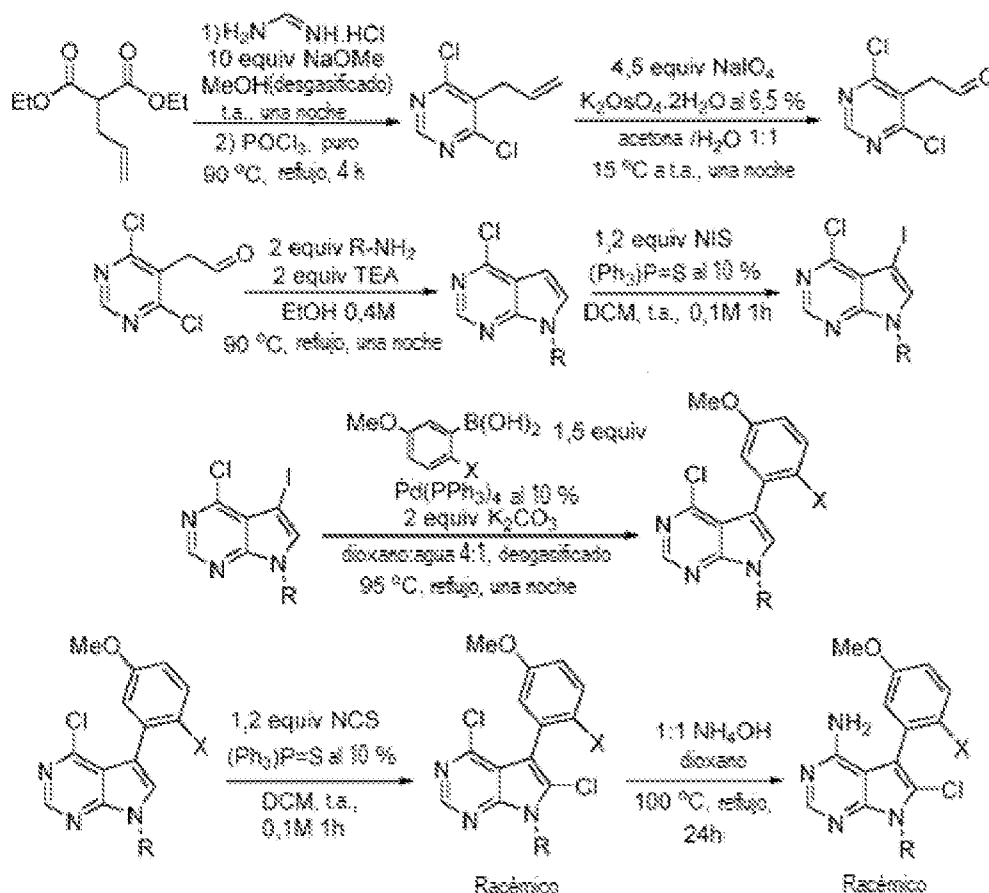
Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se registraron en espectrómetros Varian VNMRS de 400 MHz y Varian Inova de 500 MHz. Todos los desplazamientos químicos se reseñaron en partes por millón (δ) y se hicieron referencia internamente a disolventes próticos residuales a menos que se indique lo contrario. Los datos se reseñaron de la siguiente forma: desplazamiento químico (multiplicidad [singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuartete (c), pentete (p) y multiplete (m)], constantes de acoplamiento [Hz], integración). Los espectros de carbono se registraron con desacoplamiento completo de protones.

Los espectros de masas convencionales se obtuvieron usando un Thermo Finnigan LCQ Deca. Los espectros de dicroísmo circular se recogieron a 25 °C en un espectrofotómetro Aviv modelo 420 CD usando una cubeta de 1 mm. Los compuestos del estudio se disolvieron en hexanos:etanol 50:50 y los espectros se recogieron de 340 a 200 nm a intervalos de 1 nm usando un ancho de banda de 1 nm y un tiempo promedio de 1 s. Los datos se suavizaron en el software Aviv CDS. Los espectros restados del fondo se normalizaron al voltaje de PMT a 285 nm para tener en cuenta diferencias menores de concentración.

N-clorosuccinimida y N-bromosuccinimida se recrystalizaron en agua. Para las condiciones de acoplamiento cruzado, el 1,4-dioxano y el agua desionizada se desgasificaron tres veces mediante el método de congelación, bomba y descongelación antes de su uso. Todos los demás reactivos comerciales adquiridos de Sigma Aldrich, TCI, Frontier Scientific, Acros Organics, Strem, Oakwood y Fisher se usaron tal como se recibieron sin purificación adicional. Toda la cromatografía en columna ultrarrápida (FCC) se efectuó usando gel de sílice de grado 60 (malla 230-400) adquirido de Fisher Scientific.

40

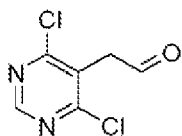
Vía Sintética General (solo referencia);



Como reconocería fácilmente un experto en la materia, se pueden instalar otros restos bloqueantes rotacionales de atropisomerismo variando la posición (p. ej., orto, meta o para con respecto a OMe en el ácido borónico) o la identidad de X (p. ej., X= alquilo (C₁-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) o halogeno). El grupo metoxi en el ácido borónico también puede ser otros grupos alcoxi, tales como alcoxi (C₁-C₄), o el oxígeno puede tener un grupo protector que cuando se retira proporciona un grupo hidroxilo (-OH). Los materiales de partida de ácido borónico adecuados pueden obtenerse de proveedores comerciales tales como Sigma-Aldrich, Alfa Aesar y Boron Molecular, o mediante técnicas de síntesis estándar conocidas por los expertos en la materia.

10

Síntesis de 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído:



15

Se preparó 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído siguiendo sustancialmente el procedimiento de Andrews et al., WO 2012/137089 A1, páginas 206-208.

20

Se trató una solución de metóxido de sodio (1,0 M en metanol desgasificado, 1,0 equiv.) con clorhidrato de formamidina (1,0 equiv.) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agitó luego la mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadió luego malonato de dietilalilo a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Luego se evaporó el metanol *al vacío* y la mezcla bruta se disolvió en agua DI mínima y se llevó a pH 6 usando HCl concentrado mediante adición gota a gota. Se añadió luego diclorometano a la mezcla de reacción y la fase orgánica se extrajo y se filtró a través de tierra de diatomeas. Se evaporó luego el disolvente mediante rotavapor para facilitar 5-allyl-6-hidroxi-3H-pirimidin-4-ona bruta que se recogió sin purificación adicional.

25

30

Después se trató la 5-allyl-6-hidroxi-3H-pirimidin-4-ona (1,0 equiv.) con oxicluro de fósforo (4,1 equiv., puro) bajo atmósfera de argón. Se calentó la mezcla a reflujo (4 horas, 90 °C) y se enfrió luego a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota agua DI enfriada con hielo a la mezcla de reacción con agitación vigorosa hasta que se inactivó todo el oxicluro de fósforo. Se extrajo luego la mezcla con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con bicarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera, se secaron sobre

sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para facilitar 5-alil-4,6-dicloropirimidina como un aceite amarillo claro con un rendimiento del 70,0 %. Bibliografía coincidente de RMN ¹H. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,81 (s, 1H), 6,04-5,72 (m, 1H), 5,28-4,87 (m, 2H), 3,72-3,49 (m, 2H).

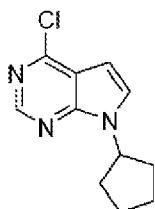
- 5 Se añadió 5-alil-4,6-dicloropirimidina (1,0 equiv.) a una mezcla 1:1 de acetona y agua (0,191 M, 15 °C). Se añadió osmiato de potasio dihidrato (0,065 equiv.) seguido de cuatro adiciones secuenciales de metaperiodato de sodio en un período de una hora (4,53 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Se filtró luego la suspensión y se retiró la acetona del filtrado *al vacío*. El producto deseado se extrajo de la capa acuosa con diclorometano y las capas orgánicas combinadas se lavaron con tiosulfato de sodio al 10 % y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para facilitar 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído como un sólido de color ámbar claro (rendimiento del 70 %). Bibliografía coincidente de RMN ¹H. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,80 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 4,15 (s, 2H).

- 15 Procedimiento general para sintetizar pirrolopirimidina *N*-alquilada (1a, 2a):

Se sintetizaron PPY *N*-alquilados según los procedimientos de Andrews et al., WO 2012/137089 A1, Prep 5.

1a. Síntesis de 4-cloro-7-ciclopentil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina:

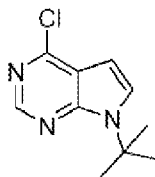
20



Se disolvió 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído en etanol (0,55 M). Se añadió luego trietilamina a la mezcla de reacción (2 equiv.) y se agitó durante diez minutos a temperatura ambiente. Se añadió luego ciclopentilamina (2 equiv.) a la mezcla de reacción y se calentó (reflujo, 90 °C) durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó *al vacío* y se diluyó con agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo (95:5 a 80:20) para procurar un aceite amarillo con un rendimiento del 32,9 %. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,61 (s, 1H), 7,31 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,59 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,26-5,11 (m, 1H), 2,36-2,17 (m, 2H), 1,96-1,70 (m, 6H).

30

2a. Síntesis de 7-(*terc*-butil)-4-cloro-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina:



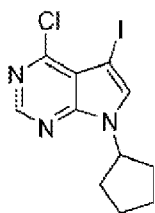
35

Se disolvió 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído en etanol (0,55 M). Se añadió luego trietilamina a la mezcla de reacción (2 equiv.) y se agitó durante diez minutos a temperatura ambiente. Se añadió luego *terc*-butilamina (2 equiv.) a la mezcla de reacción y se calentó (reflujo, 90 °C) durante la noche. Se evaporó luego la mezcla de reacción *al vacío*. La mezcla bruta se disolvió luego en agua desionizada 1:1 y acetato de etilo y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego usando FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo (95:5 a 80:20) para procurar un aceite amarillo con un rendimiento del 59,5 %. Bibliografía coincidente de RMN ¹H (Andrews et al, patente WO2012137089 A1, prep. 5). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,57 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,49 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 1,75 (s, 9H).

40

- 45 Procedimiento general para la yodación catalizada con base de Lewis de pirrolopirimidina *A*-alquilada (1b, 2b):

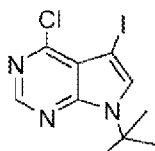
1b. Síntesis de 4-cloro-7-ciclopentil-5-yodo-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina:



Se disolvió 1a en DCM a t.a. (0,1 M). Se añadió luego sulfuro de trifetilfosfina (0,1 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de *N*-yodosuccinimida (1,2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego usando FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo (95:5 a 80:20) para procurar un sólido blanco con un rendimiento del 77,5 %. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,59 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 5,20 (p, *J*= 7,4 Hz, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,96-1,74 (m, 6H).

10

2b. Síntesis de 7-(*terc*-butil)-4-cloro-5-yodo-7*H*-pirrolo[2,3-*J*]pirimidina:



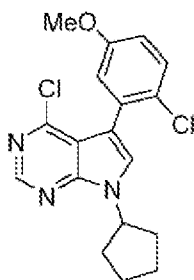
Se disolvió 2a en DCM a t.a. (0,1 M). Se añadió sulfuro de trifetilfosfina (0,1 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de *N*-yodosuccinimida (1,2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego usando FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo (95:5 a 80:20) para procurar un sólido blanco con un rendimiento del 75 %. Literatura coincidente con RMN ¹H (Maddox, Sean M. et al, Organic Letters, 17(4), 1042-1045; 2015) RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,60 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 1,77 (s, 9H).

20

Procedimiento de acoplamiento cruzado (1c, 1d, 2c, 2d):

25

1c. Síntesis de 4-cloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7-ciclopentil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (solo referencia):

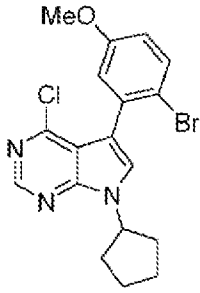


Se combinó 1b (210 mg, 0,62 mmol) con ácido (2-cloro-5-metoxifenil)borónico (175 mg, 0,94 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (72 mg, 0,062 mmol) y carbonato de potasio (173 mg, 1,25 mmol). Tras la purga con gas argón, la mezcla se disolvió en una mezcla 4:1 de dioxano desgasificado/agua DI (0,25 M) y se mantuvo en una atmósfera de argón inerte. La mezcla de reacción se calentó luego a 95 °C durante 48 h. Se evaporaron luego los volátiles *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua DI:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego usando FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 39 mg de un aceite de color naranja con un rendimiento del 35 %. RMN ¹H (599 MHz, CDCl₃) δ 8,64 (s, 1H), 7,37 (d, *J*= 8,8 Hz, 1H), 7,33 (s, 1H), 6,95 (d, *J*= 3,0 Hz, 1H), 6,88 (dd, *J*= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 5,32-5,26 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,36-2,24 (m, 2H), 2,05-1,89 (m, 4H), 1,86-1,76 (m, 2H). RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃) δ 157,68, 152,10, 151,00, 150,39, 132,80, 129,87, 126,46, 125,96, 118,38, 115,81, 114,88, 113,13, 55,93, 55,57, 32,89, 24,13.

35

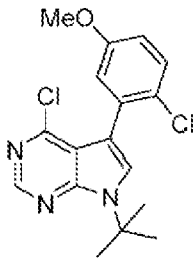
40

1d. Síntesis de 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-4-cloro-7-ciclopentil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (solo referencia):



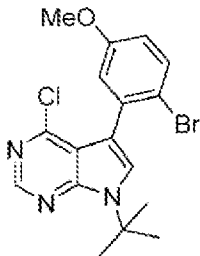
- Se combinó 1b (200 mg, 0,6 mmol) con ácido (2-bromo-5-metoxifenil)borónico (206 mg, 0,9 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (69 mg, 0,06 mmol) y carbonato de potasio (165 mg, 1,2 mmol). Tras la purga con gas argón, la mezcla se disolvió en una mezcla 4:1 de dioxano desgasificado/agua DI (0,25 M) y se mantuvo bajo atmósfera de argón inerte. La mezcla de reacción se calentó luego a 95 °C durante 48 h. Después se evaporó el dioxano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua DI:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 139 mg de un aceite de color naranja con un rendimiento del 57 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (s, 1H), 7,51 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,94 (d, J= 3,1 Hz, 1H), 6,79 (dd, J= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 5,31-5,21 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,32-2,21 (m, 2H), 1,96-1,86 (m, 4H), 1,84-1,73 (m, 2H). RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 158,30, 152,03, 150,89, 150,40, 134,88, 132,93, 125,97, 118,53, 116,17, 115,68, 115,29, 114,92, 55,93, 55,53, 32,92, 24,16.

- 2c. Síntesis de 7-(*terc*-butil)-4-cloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7H-pirrol[2,3-*d*]pirimidina (solo referencia):



- Se combinó 2b (189 mg, 0,55 mmol) con ácido (2-cloro-5-metoxifenil)borónico (152 mg, 0,82 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (63 mg, 0,055 mol) y carbonato de potasio (150 mg, 1,1 mmol). Tras la purga con gas argón, la mezcla se disolvió en una mezcla 4:1 de dioxano desgasificado:agua DI (0,25 M) y se mantuvo bajo atmósfera de argón inerte. La mezcla de reacción se calentó luego a 95 °C durante 48 h. Después se evaporó el dioxano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua DI:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 81 mg de un aceite amarillo con un rendimiento del 43 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,63 (s, 1H), 7,48-7,30 (m, 2H), 6,94 (d, J= 3,0 Hz, 1H), 6,87 (dd, J= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 1,83 (s, 9H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 157,67, 152,12, 150,99, 149,37, 133,14, 129,79, 126,62, 126,46, 118,35, 116,86, 114,81, 111,77, 58,02, 55,55, 29,24.

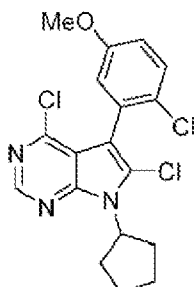
- 2d. Síntesis de 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-7-(*terc*-butil)-4-cloro-7H-pirrol[2,3-*d*]pirimidina (solo referencia):



- Se combinó 2b (179 mg, 0,52 mmol) con ácido (2-bromo-5-metoxifenil)borónico (178 mg, 0,77 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (60 mg, 0,052 mmol) y carbonato de potasio (142 mg, 1,05 mmol). Tras la purga con gas argón, la mezcla se disolvió en una mezcla 4:1 de dioxano desgasificado:agua DI (0,25 M) y se mantuvo bajo atmósfera de argón inerte. La mezcla de reacción se calentó luego a 95 °C durante 48 h. Después se evaporó el dioxano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua DI:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 124 mg de un aceite amarillo con un rendimiento

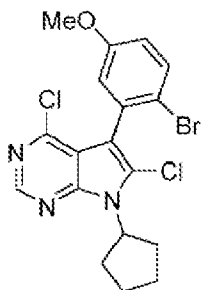
del 61 %, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (s, 1H), 6,94 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J* = 8,8, 3,1 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 1,82 (s, 9H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 158,28, 152,07, 150,88, 149,39, 135,22, 132,85, 126,41, 118,49, 116,72, 116,37, 115,22, 113,58, 58,00, 55,51, 29,26.

- 5 1c-Cl. Síntesis de 4,6-dicloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7-ciclopentil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (solo referencia):



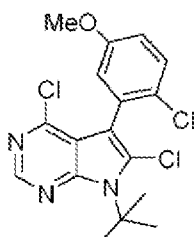
- 10 Se disolvió 1c (39 mg, 0,11 mmol) en DCM a t.a. (0,1 M). Se añadió sulfuro de trifenilfosfina (4 mg, 0,013 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de N-clorosuccinimida (18 mg, 0,135 mmol). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar un sólido amarillo claro con un rendimiento del 83 %.
- 15 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,61 (s, 1H), 7,39 (dd, *J* = 8,6, 0,6 Hz, 1H), 6,97-6,88 (m obs, 2H), 5,33-5,19 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,56-2,35 (m, 2H), 2,21-2,04 (m, 4H), 1,83-1,67 (m, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 157,82, 150,97, 150,07, 131,04, 129,90, 127,77, 127,14, 118,34, 115,77, 115,66, 110,06, 104,99, 56,83, 55,58, 30,59, 24,98.

- 20 1d-Cl. Síntesis de 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-4,6-dicloro-7-ciclopentil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (solo referencia):



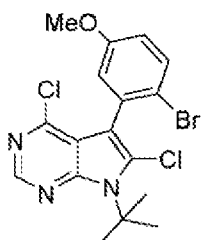
- 25 Se disolvió 1d (139 mg, 0,34 mmol) en DCM a temperatura ambiente (0,1 M). Se añadió sulfuro de trifenilfosfina (11 mg, 0,037 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de N-clorosuccinimida (55 mg, 0,41 mmol). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 139 mg de un aceite de color naranja con un rendimiento del 79 %.
- 30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,94 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8, 3,1 Hz, 1H), 5,32-5,22 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,38-2,20 (m, 2H), 2,00-1,85 (m, 4H), 1,84-1,71 (m, 2H). RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 158,30, 152,03, 150,89, 150,40, 134,88, 132,93, 125,97, 118,53, 116,17, 115,68, 115,29, 114,92, 55,93, 55,53, 32,92, 24,16.

- 35 2c-Cl. Síntesis de 7-(*terc*-butil)-4,6-dicloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (solo referencia):



Se disolvió 2c (81 mg, 0,22 mmol) en DCM a t.a. (0,1 M). Se añadió sulfuro de trifenilfosfina (7 mg, 0,024 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de N-clorosuccinimida (38 mg, 0,28 mmol). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 76 mg de un sólido amorfo amarillo con un rendimiento del 79 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,59 (s, 1H), 7,38 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 6,92 (dd, J= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 6,88 (d, J= 3,0 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,02 (s, 9H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 157,80, 151,45, 150,77, 149,22, 131,60, 129,80, 128,24, 127,18, 118,30, 115,75, 115,59, 112,10, 63,60, 55,58, 31,22.

2d-Cl. Síntesis de 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-7-(*terc*-butil)-4,6-dicloro-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (solo referencia):



15

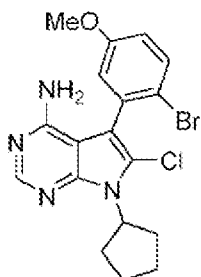
Se disolvió 2d (124 mg, 0,314 mmol) en DCM a t.a. (0,1 M). Se añadió sulfuro de trifenilfosfina (10 mg, 0,034 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos seguido de la adición de N-clorosuccinimida (51 mg, 0,38 mmol). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente una hora. Se evaporó luego el diclorometano *al vacío* y la mezcla de reacción se disolvió en agua desionizada:acetato de etilo 4:6 y la capa orgánica se recogió y se concentró. El extracto orgánico se purificó luego mediante FCC (gradiente de hexanos:acetato de etilo de 95:5 a 80:20) para procurar 96 mg de un sólido amarillo con un rendimiento del 66 %. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,60 (s, 1H), 7,57 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 6,91 (d, J= 3,0 Hz, 1H), 6,88 (dd, J= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,04 (s, 9H). RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 158,51, 151,40, 150,78, 149,26, 133,81, 132,88, 128,17, 118,46, 116,74, 115,95, 115,63, 114,00, 63,58, 55,55, 31,26.

25

Procedimiento de aminación hacia 1e, 1f, 2e, 2f (solo referencia):

1f. 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-6-cloro-7-ciclopentil-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4-amina (solo referencia):

30



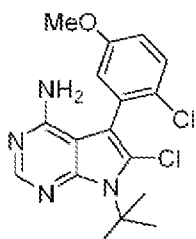
35

Se disolvió 1d-Cl (130 mg, 0,3 mmol) en 3 ml de una mezcla 1:1 de dioxano e hidróxido de amonio al 28 % (0,6 M con respecto a 1d-Cl) y se calentó a reflujo (100 °C, 24 horas) con agitación vigorosa. La reacción se concentró *al vacío* y se efectuó una separación 1:1 de la mezcla de reacción con agua DI:acetato de etilo y la capa orgánica se concentró para dar 119 mg de 1f racémico bruto como un sólido cristalino de color amarillo claro con un rendimiento del 96 %. Se separaron luego los atropisómeros de 1f mediante HPLC semipreparativa quiral (80 % de alcohol en hexanos, 3 ml por minuto, columna IA quiral de 10 mm x 250 mm). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,20 (s, 1H), 7,54 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 6,87 (d, J= 3,0 Hz, 1H), 6,82 (dd, J= 8,8, 3,1 Hz, 1H), 5,24-5,13 (m, 1H), 4,99 (s a, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,60-2,14 (m, 2H), 2,14-1,83 (m, 4H), 1,82-1,41 (m, 2H) RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 158,97, 155,04, 149,94, 148,91, 134,10, 133,89, 117,85, 116,45, 115,70, 112,19, 111,42, 93,30, 56,16, 55,62, 30,65, 24,95. EM: calculada para C₁₈H₁₈BrClN₄O 422,03. Observada [M+H]⁺: 423,00.

40

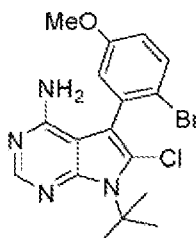
2e. Síntesis de 7-(*terc*-butil)-6-cloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4-amina (solo referencia):

45



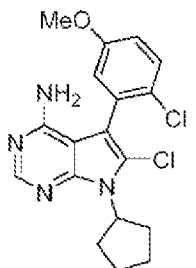
- 5 Se disolvió 2c-Cl (76 mg, 0,20 mmol) en 3 ml de una mezcla 1:1 de dioxano e hidróxido de amonio al 28 % (0,6 M con respecto a 2c-Cl) y se calentó a reflujo (100 °C, 24 horas) con agitación vigorosa. La reacción se concentró *al vacio* y se efectuó una separación 1:1 de la mezcla de reacción con agua DI:acetato de etilo y la capa orgánica se concentró para dar 71 mg de 2e racémico bruto como un sólido amorfo de color medio con un rendimiento del 98 %. Se separaron luego los atropisómeros de 2e mediante HPLC semipreparativa quiral (alcohol al 50 % en hexanos, 3 ml por minuto, columna IA quiral de 10 mm x 250 mm). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,27 (s, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,95 (dd, *J* = 5,7, 3,0 Hz, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 2,02 (s, 9H). RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 158,28, 155,18, 150,58, 149,47, 132,54, 130,67, 126,59, 122,52, 117,67, 116,06, 111,24, 102,48, 62,64, 55,65, 31,29. EM: calculada para C₁₇H₁₈Cl₂N₄O 364,09. Observada [M+H]⁺: 365,00.

- 15 2f. Síntesis de 5-(2-bromo-5-metoxifenil)-7-(*terc*-butil)-6-cloro-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (solo referencia):



- 20 Se disolvió 2d-Cl (96 mg, 0,22 mmol) en 3 ml de una mezcla 1:1 de dioxano e hidróxido de amonio al 28 % (0,6 M con respecto a 2d-Cl) y se calentó a reflujo (100 °C, 24 horas) con agitación vigorosa. La reacción se concentró *al vacio* y se efectuó una separación 1:1 de la mezcla de reacción con agua DI:acetato de etilo y la capa orgánica se concentró para dar 89 mg de 2f racémico bruto como un sólido amarillo con un rendimiento del 97 %. Se separaron luego los atropisómeros de 2f mediante HPLC semipreparativa quiral (alcohol al 50% en hexanos, 3 ml por minuto, columna IA quiral de 10 mm x 250 mm). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,07 (s, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 6,88 (dd, *J* = 8,9, 3,0 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 5,23 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 1,93 (s, 9H). RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 159,36, 150,67, 147,44, 138,50, 134,38, 131,92, 125,69, 117,66, 117,28, 115,63, 115,12, 100,88, 65,02, 55,72, 31,28. EM: calculada para C₁₇H₁₈BrClN₄O 409,71. Observada [M+H]⁺: 410,93.

- 30 1e. Síntesis de 6-cloro-5-(2-cloro-5-metoxifenil)-7-ciclopentil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (solo referencia):

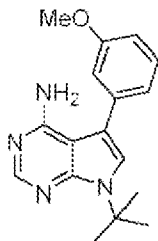


- 35 Se disolvió 1c-Cl (20 mg, 0,05 mmol) en 1 ml de una mezcla 1:1 de dioxano e hidróxido de amonio al 28 % (0,6 M con respecto a 1c-Cl) y se calentó a reflujo (130 °C, 24 horas) con agitación vigorosa. La reacción se concentró *al vacio* y se efectuó una separación 1:1 de la mezcla de reacción con agua DI:acetato de etilo y la capa orgánica se concentró para dar 15 mg de 1e aislado como un sólido amarillo con un rendimiento del 81 %.
- 40 Se separaron luego los atropisómeros de 2f mediante HPLC semipreparativa quiral (50 % de alcohol en hexanos, 3 ml por minuto, columna IA quiral). RMN ¹H (599 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (s, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,95-6,91 (m obs, 2H), 5,29-5,17 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,51-2,28 (m, 2H), 2,17-1,99 (m, 4H), 1,78-1,62 (m, 2H). RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃) δ 160,98, 157,34, 151,69, 151,38, 134,30, 133,52, 128,89, 125,14,

120,22, 118,78, 112,33, 104,55, 58,89, 58,31, 33,40, 27,60. EM: calculada para $C_{18}H_{18}Cl_2N_4O$ 376,09
Observada $[M+H]^+$: 377,13.

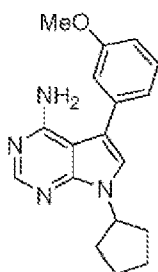
El compuesto de control 5 (solo referencia) se sintetizó de manera análoga.

5



RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,24 (s, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,02 -6,96 (m, 1H), 6,96-6,91 (m, 1H),
6,86-6,78 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 1,73 (s, 9H). EM: calculada para $C_{17}H_{20}N_4O$ 296,16 Observada
10 $[M+H]^+$: 297,20.

El compuesto de control 6 (solo referencia) se sintetizó de manera análoga.



15

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,31 (s, 1H), 7,35 (t, 1H), 7,07-7,04 (m, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,01 (c, $J=2,5, 1,6$ Hz,
1H), 6,88 (dd, $J=8,3, 2,6, 0,9$ Hz, 1H), 5,41 (s, 2H), 5,25-5,15 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,31-2,17 (m, 2H), 1,95-
1,83 (m, 4H), 1,81-1,68 (m, 2H). EM: calculada para $C_{18}H_{20}N_4O$ 308,16 Observada $[M+H]^+$: 309,27.

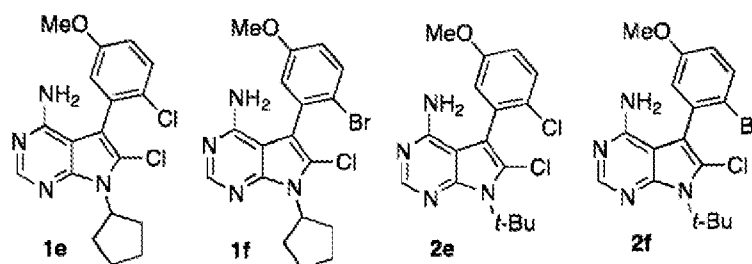
20 Ejemplo 2. Evaluación y análisis de compuestos

A. Medición experimental de las barreras a la rotación (solo referencia)

Se aislaron análogos de pirrolopirimidina atropisoméricos enantioméricamente enriquecidos mediante HPLC
25 quiral (Daicel Chiralpak IA PN:80335, 3 ml/min, 80:20 o 50:50 de hexanos:etanol, 25 °C) y se evaporaron al
vacío. Los análogos enantioméricamente enriquecidos se disolvieron luego en etanol y se colocaron en un
vial sellado de 2 dram y se calentaron a temperatura constante sobre un bloque de aluminio. En cada punto
temporal, se retiró una alícuota de la mezcla y se inactivó en un vial de HPLC que contenía hexanos:etanol
80:20 enfriado con hielo. Se inyectó luego cada muestra en el sistema de HPLC quiral (Daicel Chiralpak IA
30 PN:80325, 1 ml/min, 80:20 o 50:50 de hexanos:etanol, 25 °C) y se midió el exceso enantiomérico (ee). Se
representaron gráficamente luego los datos del punto temporal y del exceso enantiomérico (ee) para
determinar la constante de velocidad observada, k_{obs} , a la temperatura correspondiente. Se calculó luego la
barrera a la rotación usando la relación de racemización de $k_{racemización} = 2 \cdot k_{enantiomerización}$ y se sustituyó luego
35 en la ecuación de energía libre de Gibbs:

$$\Delta G = -RT \ln\left(\frac{hk}{k_b k T}\right) \quad k = \frac{\ln(2)}{t_{1/2}(s)}$$

donde h = Constante de Planck, k_b = Constante de Boltzmann, T = Temp. (K), R = Constante del gas.



| Barrera a la rotación | 1e | 1f | 2e | 2f |
|---|----------|----------|----------|----------|
| K_{obs} | 1,24E-04 | 1,01E-05 | 3,27E-05 | 2,68E-05 |
| kcal/mol | 27,2 | 29,0 | 28,6 | 30,4 |
| $t_{1/2}$ hasta racemización a 37 °C (días) | 18 | 301 | 157 | 2929 |
| (Años) | n/d | 0,826 | 0,429 | 8,02 |

B. Datos de caracterización de perfiles de cinasa

5 Todas las muestras se enviaron a Life Technologies para obtener los datos de inhibición de cinasa. A continuación se incluye una breve descripción de los ensayos y análisis.

10 *Teoría del ensayo (SelectScreen® Kinase Profiling Services (Life Technologies, Madison, WI EE. UU.).* El ensayo bioquímico Z'-LYTE® emplea un formato de enzima acoplada basado en fluorescencia y se basa en la sensibilidad diferencial de los péptidos fosforilados y no fosforilados a la escisión proteolítica. El sustrato peptídico está marcado con dos fluoróforos, uno en cada extremo, que forman un par de FRET.

15 En la reacción primaria, la cinasa transfiere el gamma-fosfato de ATP a un único residuo de tirosina, serina o treonina en un péptido de FRET sintético. En la reacción secundaria, una proteasa específica de sitio reconoce y escinde los péptidos de FRET no fosforilados. La fosforilación de péptidos de FRET suprime la escisión por el reactivo de desarrollo. La escisión interrumpe la FRET entre los fluoróforos donante (es decir, cumarina) y aceptor (es decir, fluoresceína) en el péptido de FRET, mientras que los péptidos de FRET fosforilados y no escindidos mantienen la FRET. Para cuantificar el progreso de la reacción, se usa un método ratiométrico, que calcula la relación (la relación de emisión) entre la emisión del donante y la emisión del aceptor después de la excitación del fluoróforo donante a 400 nm, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{Relación de emisión} = \frac{\text{emisión de cumarina (445 nm)}}{\text{emisión de fluoresceína (520 nm)}}$$

25 Un beneficio significativo de este método ratiométrico para cuantificar el progreso de la reacción es la eliminación de variaciones de pocillo a pocillo en la concentración de péptido de FRET y las intensidades de señal. Como resultado, el ensayo procura valores de factor Z' muy altos (>0,7) con un porcentaje de fosforilación bajo. Tanto los péptidos de FRET escindidos como no escindidos contribuyen a las señales de fluorescencia y por lo tanto a la relación de emisión. La extensión de la fosforilación del péptido de FRET se puede calcular a partir de la relación de emisión. La relación de emisión permanecerá baja si el péptido de FRET está fosforilado (es decir, sin inhibición de cinasa) y será alta si el péptido de FRET no está fosforilado (es decir, sin inhibición de cinasa).

35 Tanto los péptidos de FRET escindidos como no escindidos contribuyen a las señales de fluorescencia y por lo tanto a la relación de emisión. La extensión de la fosforilación del péptido de FRET se puede calcular a partir de la relación de emisión. La relación de emisión permanecerá baja si el péptido de FRET está fosforilado (es decir, sin inhibición de cinasa) y será alta si el péptido de FRET no está fosforilado (es decir, sin inhibición de cinasa).

40 C. Metodología de acoplamiento *in silico*

45 Se usaron para estos estudios las estructuras cristalinas de rayos X de: Src en complejo con el inhibidor CGP77675 (PDB 1YOL); Ret en complejo con el inhibidor PP1 (PDB 2IVV); la forma activa de EGFR en complejo con un análogo de ATP (PDB 2GS6), así como la forma inactiva de EGFR en complejo con AMP-PNP (PDB 2GS7). Cada estructura de rayos X se importó a MOE (Chemical Computing Group) y se alineó estructuralmente usando las funciones Alinear y Superponer en MOE. Se retiraron todas las aguas, así como otras moléculas no proteicas, no ligandos o no cofactores, y se protonaron las estructuras.

50 Los compuestos 5 y 2e se dibujaron usando Chemdraw (Cambridgesoft, Inc.) y luego se importaron a MOE. Las estructuras bidimensionales se convirtieron en estructuras tridimensionales y se minimizaron usando el potencial de fase gaseosa MMFF94x (Halgren, TA, J. Comp. Chem., 1996, 17, 490-512). Para cada proteína, se utilizó la conformación de rayos X del ligando unido para definir el bolsillo de unión. Los experimentos de

acoplamiento se efectuaron con la función Acoplar en MOE usando el campo de fuerza Amber12:EHT (Gerber y Müller, J. Comput. Aided Mol. Des., 1995, 3, 251-68) con solvatación parametrizada y parámetros y funciones de ajuste predeterminados. Para estos estudios, el sitio de unión del receptor permaneció rígido y al ligando se le permitió total flexibilidad manteniéndose las diez poses no redundantes con mayor puntuación. Para verificar que las poses resultantes del acoplamiento *in silico* representan conformaciones unidas correctamente, cada pose se inspeccionó visualmente y se comparó con los modos de unión y las conformaciones determinados experimentalmente para cada proteína, respectivamente. Adicionalmente, se reseñan los ángulos diédricos formados por los dos anillos de arilo para cada pose de mayor puntuación.

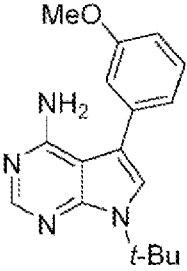
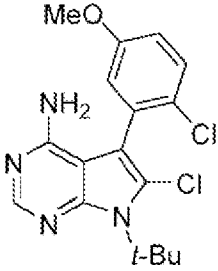
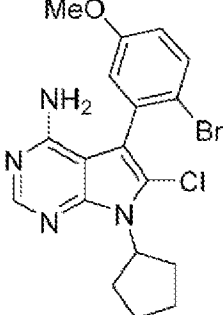
10 D. Cálculos del panorama rotacional

Todas las estructuras se optimizaron en la fase gaseosa utilizando la teoría funcional de la densidad (RB3LYP) con el conjunto de bases 6-31G(d) implementado en el paquete de programas Gaussian 09. El ángulo diédrico indicado se congeló cada 10 grados mientras se minimizaba el resto de la estructura. Los cálculos de energía de un solo punto se efectuaron en las estructuras minimizadas usando M06-2X/6-31+G(d) tal como se implementó en Gaussian 09. Se aplicaron las correcciones térmicas de RB3LYP/6-31G(d) a las energías de M06-2X/6-31+G(d) (Zhao, Y.; Truhlar, DG Theor Chem Account 2006, 120, 215; Frisch et al., J. Chem. Phys. 1984, 80, 3265). Todas las energías se reseñan en kcal/mol con respecto al inhibidor minimizado.

20

E. Datos de inhibición adicionales (Tabla 3)

Tabla 3. Datos de inhibición (solo referencia).

| | | |
|--|--|--|
|  |  |  |
| Inhibía un 44 % (8/18) de las tirosina cinasas | (R): Inhibía un 11 % (2/18) (S): Inhibía un 16 % (3/18) | |
| Cl ₅₀ de Src: 160 nM | (R): 5570 nM | (R): 10.000 nM |
| Cl ₅₀ de Abl: 245 nM | (S): 1193 nM | (S): 1300 nM |
| Cl ₅₀ de Ret: 128 nM | (R): 10.000 nM (S): 1432 nM | |
| | (R): 1857 nM (S): 7659 nM | |

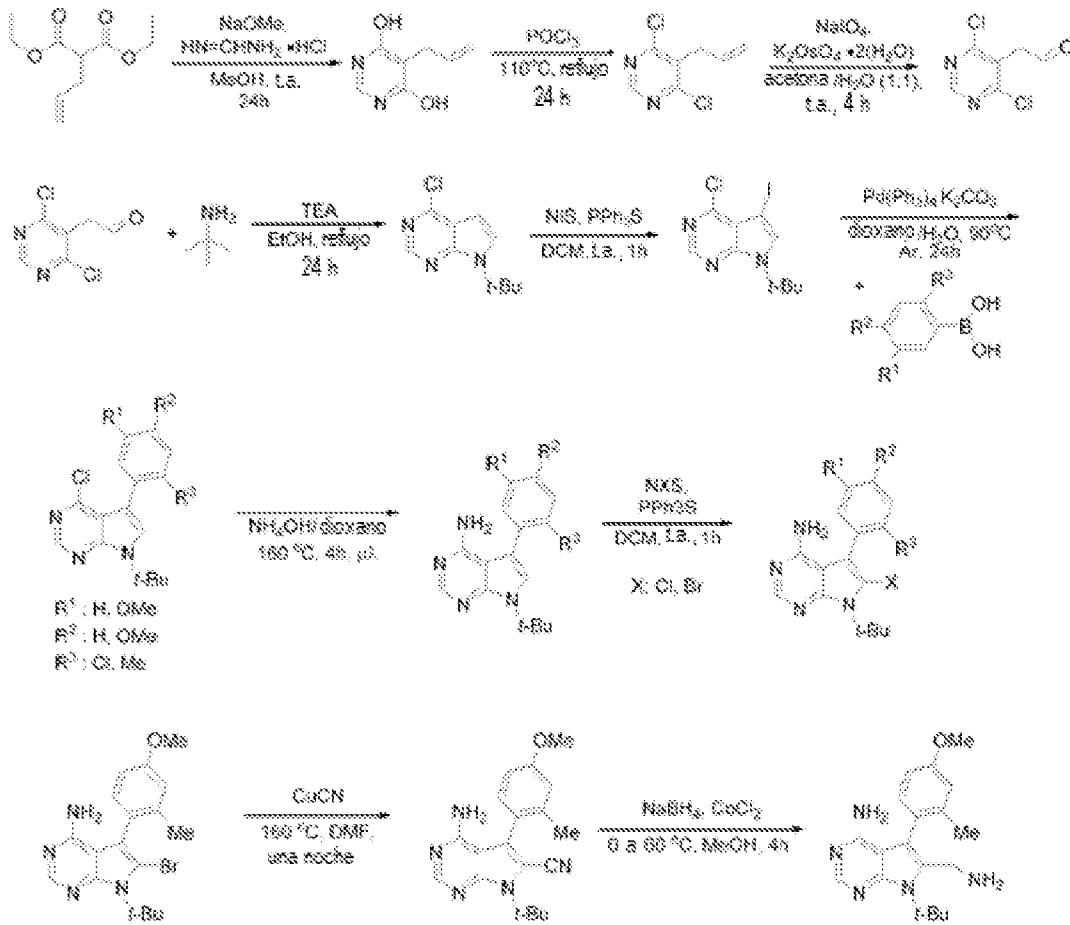
25 Las etapas de síntesis generales para proporcionar los compuestos atropisómeros divulgados comprenden la condensación de una diamina con un diéster alílico para formar un núcleo de pirimidina sustituido, la halogenación de la pirimidina y la oxidación del sustituyente alilo, seguido de la condensación con una alquilamina y luego una reacción de sustitución para formar una pirrolopirimidina heterocíclica. El heterociclo se halogena y se acopla cruzadamente con un resto arilo sustituido, se amina en el resto pirimidino del heterociclo y luego se halogena en el resto pirrolo del heterociclo. El halógeno en el resto pirrolo se puede procesar adicionalmente mediante sustitución nucleofílica (o intercambio de metal-halógeno, o litación si no hay halógeno), a otros grupos funcionales mediante métodos conocidos en la materia, tales como un grupo aminometilo o un grupo alquilo. Otras variaciones de la síntesis pueden incluir etapas de protección y/o desprotección.

30

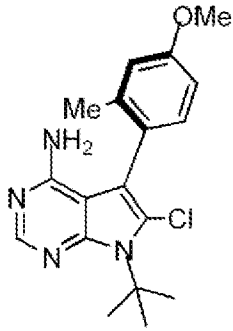
Ejemplo 3. Preparación y caracterización de compuestos adicionales

35

Procedimiento General 1 (solo referencia)

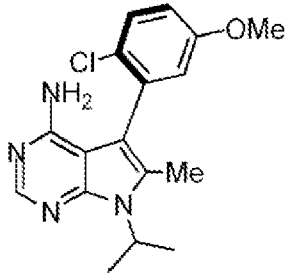


STT-60 (solo referencia)



5 Se siguió el procedimiento general 1. RMN ^1H (400 MHz, cdCl_3) δ 8,23 (s, 1H), 7,19 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J=2,5$ Hz, 1H), 6,82 (dd, $J=8,3, 2,6$ Hz, 1H), 4,66 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 1,98 (s, 9H). EM (APCI) Calculada: $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}$ $[\text{M}+1]$ 345,14 Encontrada: 345,5.

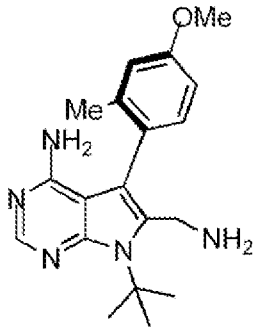
STT-62 (solo referencia)



10

Se siguió el procedimiento general 2. RMN ^1H (400 MHz, cdCl_3) δ 8,25 (s, 1H), 7,41 (dd, $J=7,3, 2,0$ Hz, 1H), 6,90 (d, $J=1,8$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J=6,1$ Hz, 1H), 4,92 (sep, $J=13,7, 6,9$ Hz, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,68 (d, $J=7,0$ Hz, 6H). EM (APCI) Calculada: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}$ $[\text{M}+1]$ 331,12 Encontrada: 331,5

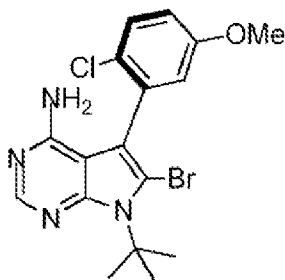
15 SMM-129 (solo referencia)



20

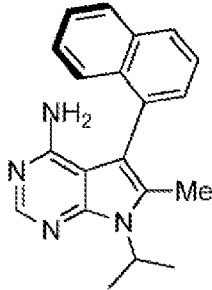
Se siguió el procedimiento general 1. RMN ^1H (599 MHz, cdCl_3) δ 8,27 (s, 1H), 7,20 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 6,91 (d, $J=2,6$ Hz, 1H), 6,84 (dd, $J=8,3, 2,7$ Hz, 1H), 4,84 (s, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,02 (s, 8H). EM (APCI) Calculada: $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+1]$ 340,21 Encontrada: 340,6.

STT-65 (solo referencia)



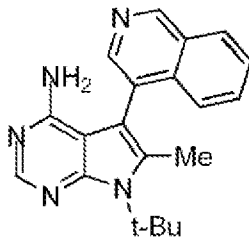
Se siguió el procedimiento general 1. RMN ¹H (400 MHz, cdcl₃) δ 8,24 (s, 1H), 7,43 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 6,96 (d, J= 3,0 Hz, 1H), 6,93 (dd, J= 7,8, 3,0 Hz, 1H), 4,63 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,03 (s, 9H). EM (APCI) Calculada: C₁₇H₁₈BrClN₄O [M+1] 409,04 Encontrada: 409,5.

5 STT-76



10 Se siguió el procedimiento general 2. RMN ¹H (500 MHz, cdcl₃) δ 8,26 (s, 1H), 7,96-7,92 (m, 2H), 7,65 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 7,60-7,44 (m, 4H), 5,00 (sep, J= 13,9, 6,9 Hz, 1H), 4,91 (s, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,76 (dd, J= 6,9, 5,3 Hz, 6H). EM (APCI) Calculada: C₂₀H₂₀N₄ [M+1] 317,17 Encontrada: 317,5.

STT-105

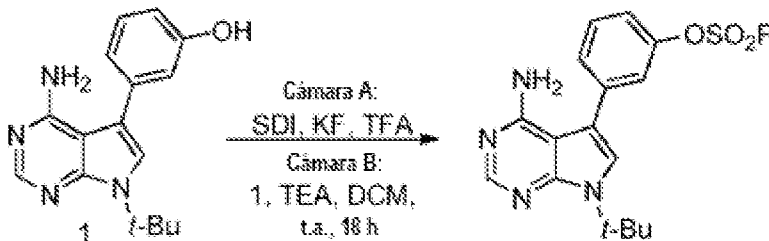


15

20 Siguiendo el procedimiento 2. RMN ¹H δ 9,36 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,14-8,12 (m, 1H), 7,76-7,73 (m, 2H), 7,53 (d, J= 9,1 Hz, 1H), 6,10 (s, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,01 (s, 9H). EM (APCI) Calculada: C₂₀H₂₂N₅ [M+H]⁺ 331,2 Encontrada: 331,2.

20

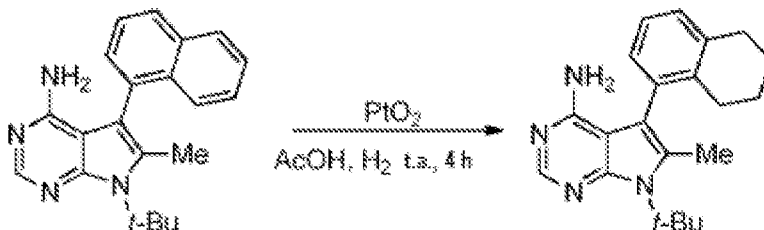
STT-176 (solo referencia)



25 Siguiendo el procedimiento general 1 y la reacción anterior. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,33 (s, 1H), 7,59-7,53 (m, 2H), 7,47 (s, 1H), 7,34-7,30 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 5,34 (s, 2H), 1,81 (s, 9H) EM (APCI) Calculada: C₁₆H₁₈FN₄O₃S [M+H]⁺ 365,1 Encontrada: 365,0.

30 STT-82 (solo referencia)

30



Siguiendo el procedimiento 2 y la reacción anterior. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (s, 1H), 7,18-7,12 (m, 2H), 7,03 (dd, J= 6,9, 1,7 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 2,84 (t, J= 6,3 Hz, 2H), 2,41-2,35 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,30-2,24 (m, 1H), 1,92 (s, 9H), 1,80-1,75 (m, 2H), 1,72-1,68 (m, 2H) EM (APCI) Calculada: C₂₁H₂₇N₄ [M+H]⁺ 355,2 Encontrada: 355,0.

5

Tabla 4. Datos de selectividad de inhibición.

| Compuesto* | R ¹ | R ² | R ³ | Cl ₅₀ de Ret (nM) | Cl ₅₀ de Src (nM) |
|----------------------|--------------------------------|----------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| (R _a)-1 | 2-metil-5-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 1581 | 4547 |
| (S _a)-1 | 2-metil-5-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 2243 | 4089 |
| (R _a)-2 | 2-metil-4-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 1871 | >10000 |
| (S _a)-2 | 2-metil-4-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 2998 | >10000 |
| (R _a)-3 | 2-cloro-4-metil-5-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 7066 | >10000 |
| (S _a)-3 | 2-cloro-4-metil-5-metoxifenilo | cloro | <i>t</i> -butilo | 4806 | 918 |
| (R _a)-4 | 2-cloro-5-metoxifenilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 699 | 1330 |
| (S _a)-4 | 2-cloro-5-metoxifenilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 2268 | 406 |
| (R _a)-5 | 2-metil-5-metoxifenilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 731 | 6374 |
| (S _a)-5 | 2-metil-5-metoxifenilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 2497 | 4104 |
| (R _a)-6 | 2-cloro-5-metoxifenilo | bromo | <i>t</i> -butilo | 1500 | |
| (S _a)-6 | 2-cloro-5-metoxifenilo | bromo | <i>t</i> -butilo | 8000 | |
| (R _a)-7 | 2-metil-4-metoxifenilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 450 | 3321 |
| (S _a)-7 | 2-metil-4-metoxifenilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 918 | 4749 |
| (R _a)-8 | 2-metil-4-metoxifenilo | aminometilo | <i>t</i> -butilo | 773 | 5286 |
| (S _a)-8 | 2-metil-4-metoxifenilo | aminometilo | <i>t</i> -butilo | 9067 | >10000 |
| (R _a)-9 | naftilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 34 | 1366 |
| (S _a)-9 | naftilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 8811 | >10000 |
| (R _a)-10 | naftilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 282 | 5572 |
| (S _a)-10 | naftilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 9565 | >10000 |
| (R _a)-11 | 4-metilnaftilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 150 | 1650 |
| (S _a)-11 | 4-metilnaftilo | metilo | <i>i</i> -propilo | 2865 | 4560 |
| (R _a)-12 | isoquinolinilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 282 | 7451 |
| (S _a)-12 | isoquinolinilo | metilo | <i>t</i> -butilo | 17 | 316 |
| (R _a)-13 | 5,6,7,8-tetrahidronaftilo | metilo | <i>t</i> -butilo | >10000 | >10000 |
| (S _a)-13 | 5,6,7,8-tetrahidronaftilo | metilo | <i>t</i> -butilo | >10000 | >10000 |

*La estereoquímica se asignó basándose en que el primer enantiómero que eluyó de la HPLC es (R_a). Los compuestos muestran selectividad hacia la cinasa Ret frente a la cinasa Src.

Ejemplo 4. Formas farmacéuticas de dosificación

- 10 Las formulaciones siguientes ilustran formas farmacéuticas de dosificación representativas que se pueden usar para la administración terapéutica o profiláctica de un compuesto (p. ej., un atropisómero) de una fórmula descrita en el presente documento, un compuesto divulgado específicamente en el presente documento o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo (en lo sucesivo denominado "Compuesto X"):

15

| | |
|--------------------------|---------------|
| (i) Comprimido 1 | mg/comprimido |
| "Compuesto X" | 100,0 |
| Lactosa | 77,5 |
| Povidona | 15,0 |
| Croscarmelosa de sodio | 12,0 |
| Celulosa microcristalina | 92,5 |
| Estearato de magnesio | 3,0 |
| | 300,0 |
| (ii) Comprimido 2 | mg/comprimido |
| "Compuesto X" | 20,0 |
| Celulosa microcristalina | 410,0 |

ES 2 968 421 T3

| | |
|-------------------------------|------------|
| Almidón | 50,0 |
| Glicolato de almidón de sodio | 15,0 |
| Estearato de magnesio | <u>5,0</u> |
| | 500,0 |

| (iii) Cápsula | mg/cápsula |
|-----------------------------|------------|
| "Compuesto X" | 10,0 |
| Dióxido de silicio coloidal | 1,5 |
| Lactosa | 465,5 |
| Almidón pregelatinizado | 120,0 |
| Estearato de magnesio | <u>3,0</u> |
| | 600,0 |

| (iv) Inyección 1 (1 mg/ml) | mg/ml |
|---|-------------|
| "Compuesto X" (forma de ácido libre) | 1,0 |
| Fosfato de sodio dibásico | 12,0 |
| Fosfato de sodio monobásico | 0,7 |
| Cloruro de sodio | 4,5 |
| Solución de hidróxido de sodio 1,0 N (Ajuste del pH a 7,0-7,5) | c.s. |
| Agua para inyecciones | c.s.p. 1 ml |

| (v) Inyección 2 (10 mg/ml) | mg/ml |
|---|-------------|
| "Compuesto X" (forma de ácido libre) | 10,0 |
| Fosfato de sodio monobásico | 0,3 |
| Fosfato de sodio dibásico | 1,1 |
| Polietilenglicol 400 | 200,0 |
| Solución de hidróxido de sodio 0,1 N (Ajuste del pH a 7,0-7,5) | c.s. |
| Agua para inyecciones | c.s.p. 1 ml |

| (vi) Aerosol | mg/bote |
|--------------------------|---------|
| "Compuesto X" | 20 |
| Ácido oleico | 10 |
| Tricloromonofluorometano | 5.000 |
| Diclorodifluorometano | 10.000 |
| Diclorotetrafluoroetano | 5.000 |

| (vii) Gel tópico 1 | % en peso |
|-----------------------|--------------|
| "Compuesto X" | 5 % |
| Carbómero 934 | 1,25 % |
| Trietanolamina | c.s. |
| (Ajuste del pH a 5-7) | |
| Metilparabeno | 0,2 % |
| Agua purificada | c.s.p. 100 g |

| (viii) Gel tópico 2 | % en peso |
|---------------------|--------------|
| "Compuesto X" | 5 % |
| Metilcelulosa | 2 % |
| Metilparabeno | 0,2 % |
| Propilparabeno | 0,02 % |
| Agua purificada | c.s.p. 100 g |

| (ix) Pomada tópica | % en peso |
|------------------------|--------------|
| "Compuesto X" | 5 % |
| Propilenglicol | 1 % |
| Base de pomada anhidra | 40 % |
| Polisorbato 80 | 2 % |
| Metilparabeno | 0,2 % |
| Agua purificada | c.s.p. 100 g |

| (x) Crema tópica 1 | % en peso |
|-----------------------|-----------|
| "Compuesto X" | 5 % |
| Cera de abejas blanca | 10 % |

ES 2 968 421 T3

| | |
|-------------------|--------------|
| Parafina líquida | 30 % |
| Alcohol bencílico | 5 % |
| Agua purificada | c.s.p. 100 g |

| <u>(xi) Crema tópica 2</u> | <u>% en peso</u> |
|------------------------------------|------------------|
| "Compuesto X" | 5 % |
| Ácido esteárico | 10 % |
| Monoestearato de glicerol | 3 % |
| Éter estearílico de polioxietileno | 3 % |
| Sorbitol | 5 % |
| Palmitato de isopropilo | 2% |
| Metilparabeno | 0,2 % |
| Agua purificada | c.s.p. 100 g |

5 Estas formulaciones pueden prepararse mediante procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica. Se apreciará que las composiciones farmacéuticas anteriores se pueden variar según técnicas farmacéuticas bien conocidas para adaptarse a diferentes cantidades y tipos de ingrediente activo "compuesto X". La formulación en aerosol (vi) se puede usar de manera conjunta con un dispensador de aerosol de dosis medida estándar. Adicionalmente, las proporciones e ingredientes concretos se dan con fines ilustrativos. Se pueden intercambiar los ingredientes por equivalentes adecuados y se pueden modificar las proporciones según las propiedades de la forma de dosificación de interés deseadas.

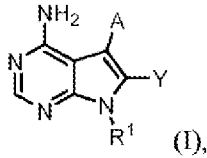
10

La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:

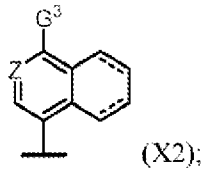
5



o una sal o solvato del mismo;

10 en la que

A es un resto de Fórmula X2:



15

G³ es H, metilo, etilo o NH₂;

Y es fluoro, cloro, bromo, NH₂, -alquilo (C₁-C₄) o -CH₂N(R^B)₂;

20

----- es un enlace arilo;

Z es CH o N;

25

R¹ es -alquilo (C₁-C₈), -cicloalquilo (C₁-C₈), piperidina o -fenilo(Q), en el que el -alquilo (C₁-C₈) es ramificado o no ramificado;

cada R^B es independientemente H, -alquilo (C₁-C₄), -C(=O)(alquilo C₁-C₄) o -C(=O)(CH₂)Cl; y

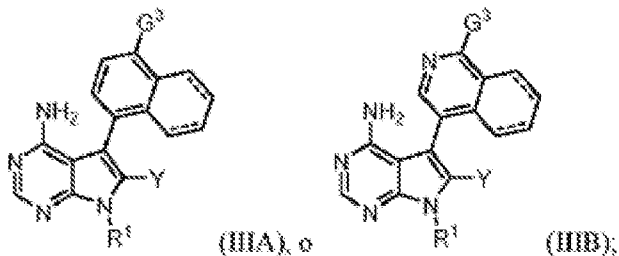
30

Q es H, metilo, etilo, fluoro, cloro o bromo, en el que Q está en la posición *orto*-, *meta*- o *para*- del resto -fenilo(Q),

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (R).

35

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de Fórmula IIIA o Fórmula IIIB:



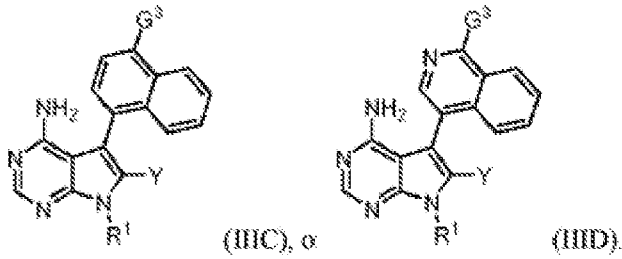
40

en la que

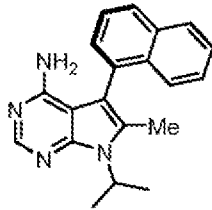
----- es un enlace arilo y R¹ es terc-butilo o *iso*-propilo, o ciclopentilo.

45

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de Fórmula IIIC o Fórmula IIID:

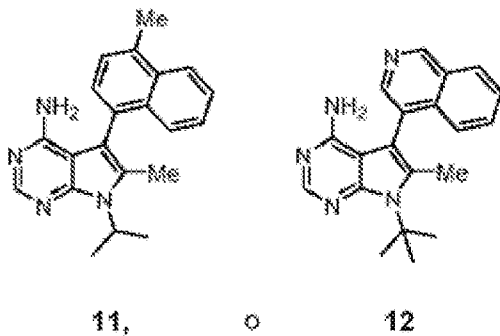


4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es:



5 NA-PP1-(R) ;

o en el que el compuesto es el compuesto 11 o 12:



10

5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el compuesto es un atropisómero conformacionalmente estable y un inhibidor selectivo de cinasa.

6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en combinación con un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para uso en un método de inhibición del crecimiento de células cancerosas, el uso que comprende la puesta en contacto de células cancerosas con una cantidad eficaz del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, inhibiendo así el crecimiento de las células cancerosas.

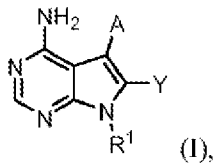
8. El compuesto para uso de la reivindicación 7, en el que el compuesto es el atropisómero (A) y el compuesto es selectivo para la cinasa RET o la cinasa YES.

9. El compuesto para uso de la reivindicación 8, en el que las células cancerosas causan un tumor del estroma gastrointestinal (GIST), cáncer medular de tiroides, cáncer de mama ER positivo o cáncer de pulmón o microcítico; o en el que las células cancerosas causan melanoma, cáncer de mama o rhabdomyosarcoma.

10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de un cáncer, comprendiendo el uso administrar a un mamífero que tiene cáncer una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, tratando así el cáncer en el mamífero; en el que, opcionalmente, el cáncer es un tumor del estroma gastrointestinal, cáncer medular de tiroides, cáncer de mama o cáncer de mama ER positivo, cáncer de pulmón no microcítico, melanoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de colon, cáncer de próstata o leucemia mieloide crónica.

35

11. Un compuesto de Fórmula I:



o una sal o solvato del mismo;

5

en la que

A es isoquinolilo;

10 Y es metilo; y

R¹ es *t*-butilo;

en el que el compuesto es un atropisómero que tiene una configuración (*R*) o una configuración (*S*).

15

12. El compuesto de la reivindicación 12, en el que el compuesto es (*S*)-7-(*terc*-butil)-5-(isoquinolin-4-il)-6-metil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-amina.

20

13. El compuesto de la reivindicación 12, en el que el compuesto es (*R*)-7-(*terc*-butil)-5-(isoquinolin-4-il)-6-metil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-amina.

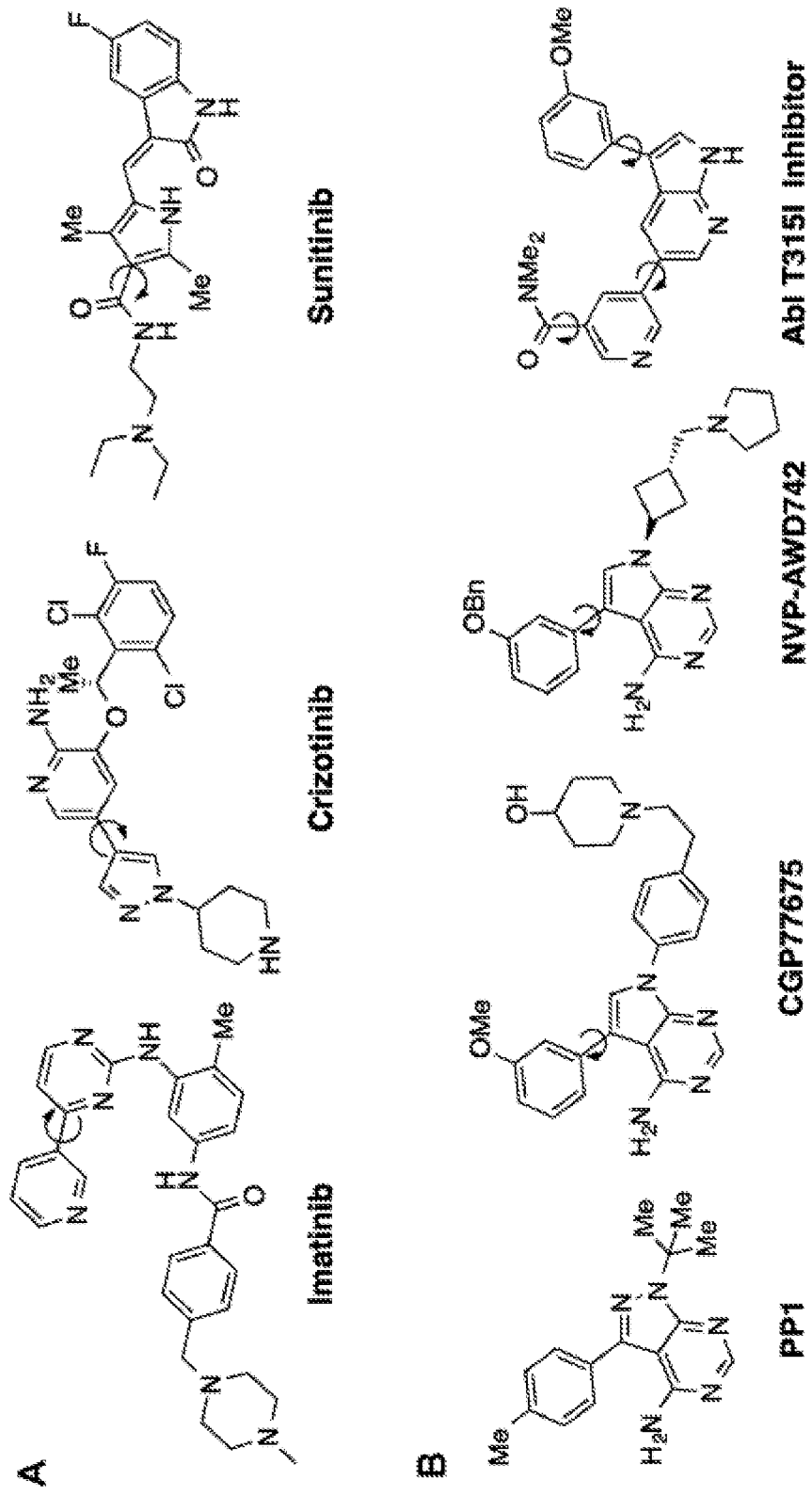


Fig. 1

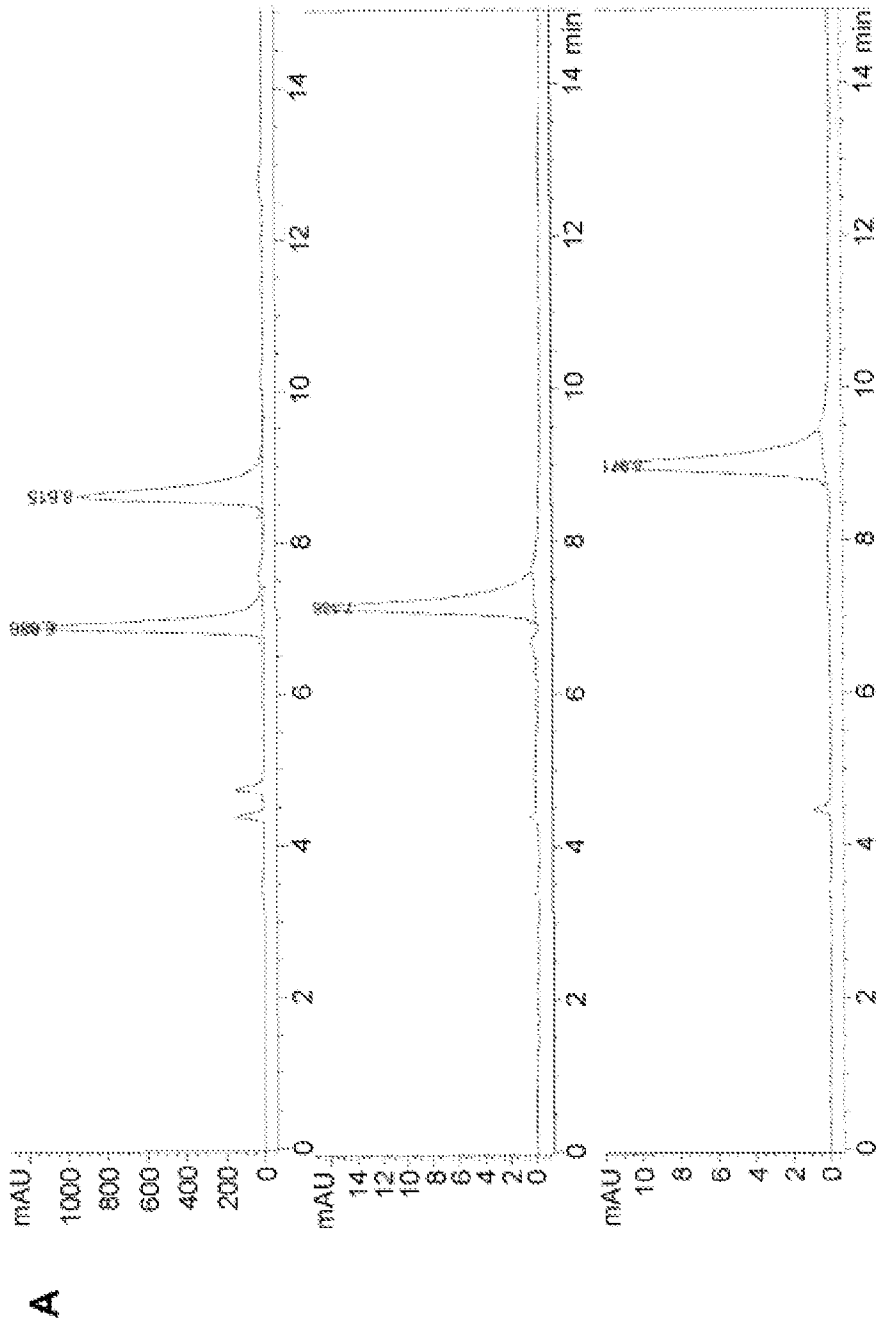


Fig. 2

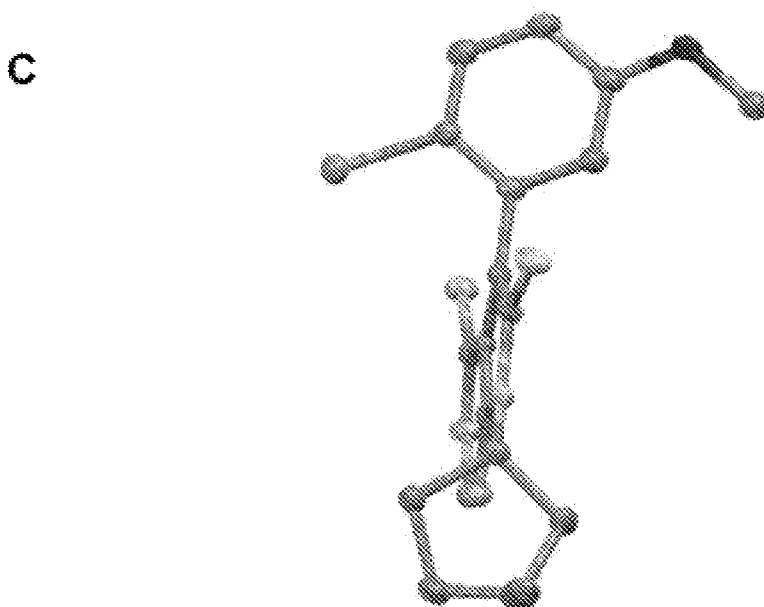
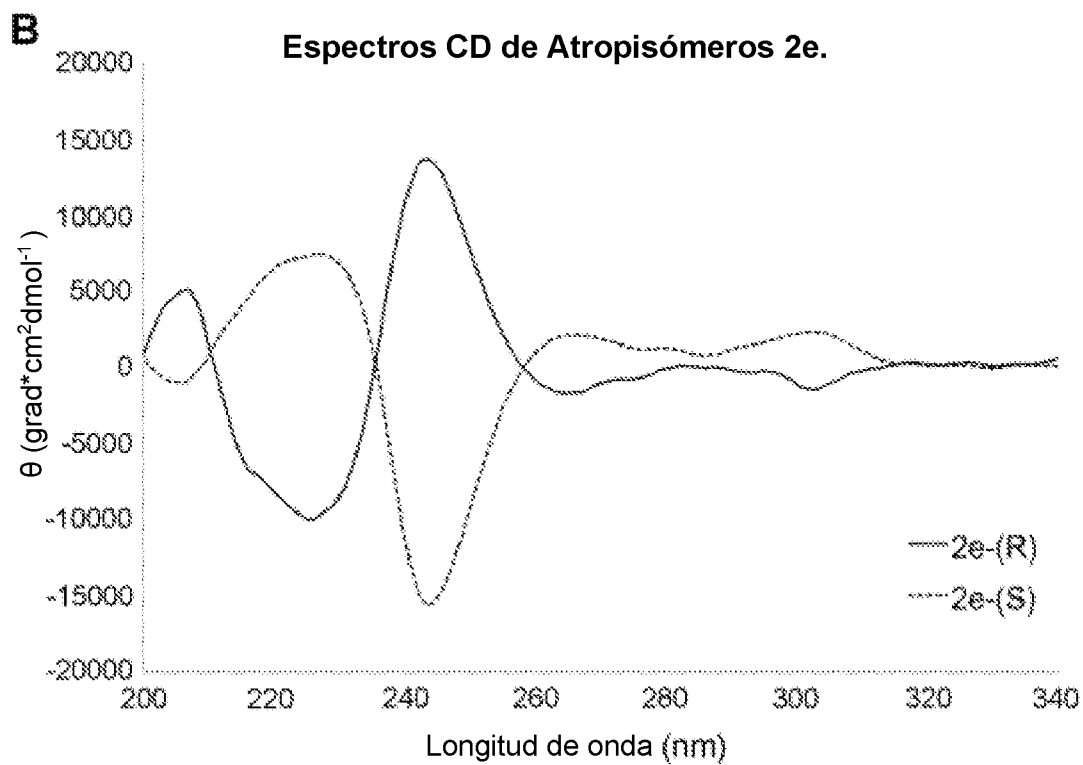


Fig. 2 (cont.)

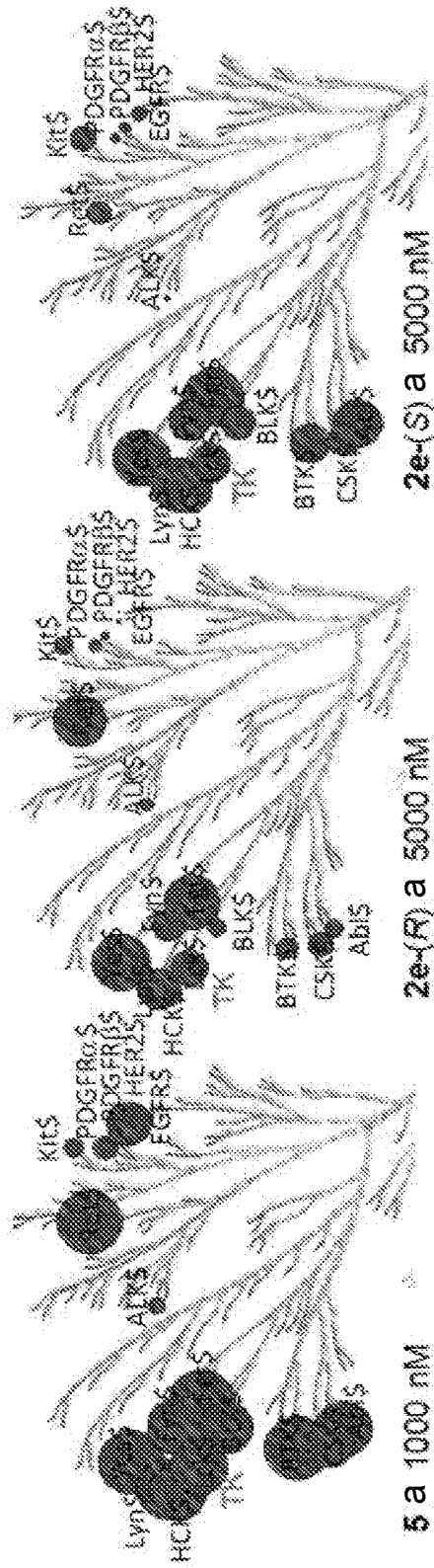


Fig. 3

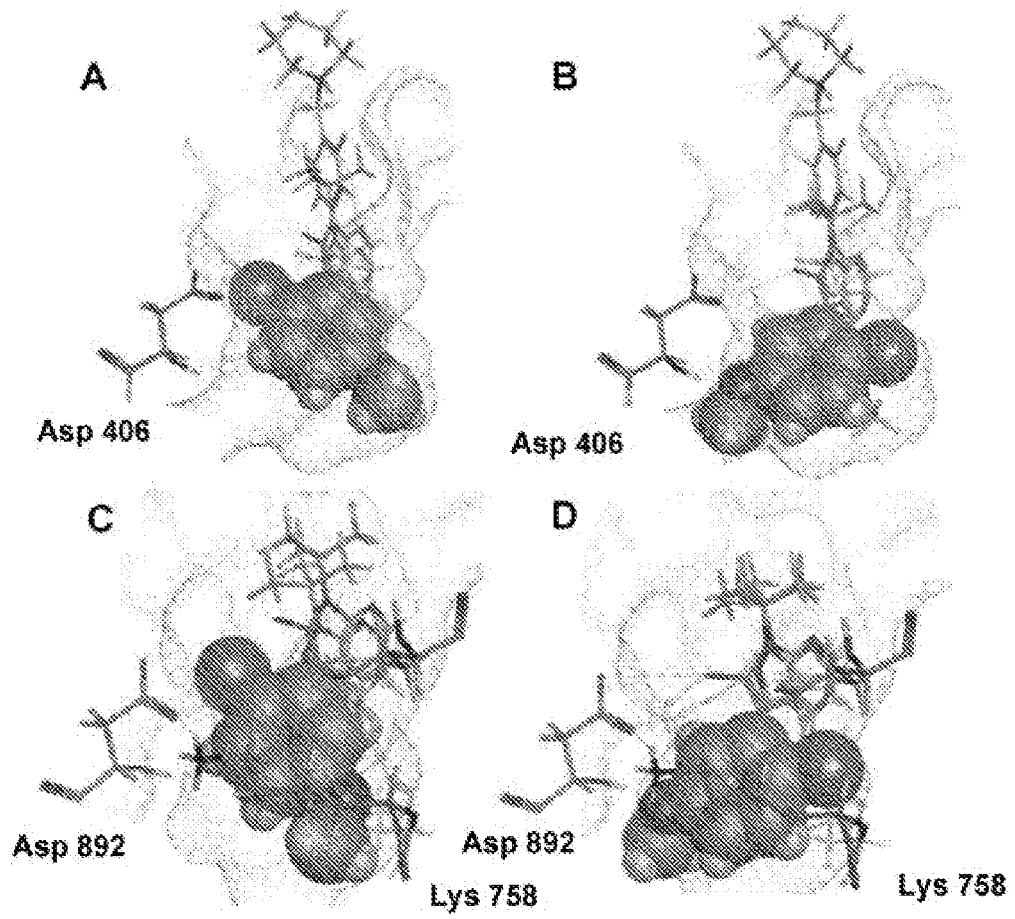


Fig. 4