



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 986 593**

⑮ Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)
C07D 498/18 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.07.2018 PCT/US2018/043817**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **31.01.2019 WO19023417**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2018 E 18838274 (1)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2024 EP 3658148**

④ Título: **Compuestos macrocíclicos y usos de los mismos**

⑩ Prioridad:

**28.07.2017 US 201762538193 P
20.07.2018 US 201862700990 P**

⑤ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.11.2024

⑩ Titular/es:

**TURNING POINT THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

⑦ Inventor/es:

**CUI, JINGRONG JEAN;
ROGERS, EVAN W.;
UNG, JANE;
WHITTEN, JEFFREY;
Zhai, DAYONG;
DENG, WEI;
ZHANG, XIN;
HUANG, ZHONGDONG;
LIU, JING y
ZHANG, HAN**

⑩ Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 986 593 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

Compuestos macrocíclicos y usos de los mismos

5 **Campo técnico**

La presente descripción se refiere a ciertos compuestos macrocíclicos que inhiben SRC y MET, y/o CSF1R, composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos, y tales compuestos para uso en métodos para tratar el cáncer.

10

Antecedentes de la invención

Las proteínas quinasas son reguladores clave para el crecimiento celular, la proliferación y la supervivencia. Se acumulan alteraciones genéticas y epigenéticas en las células cancerosas que conducen a la activación anormal de las vías de transducción de señales que conducen procesos malignos (Manning, G. et al, The protein kinase complement of the human genome. *Science* **2002**, 298, 1912–1934). La inhibición farmacológica de estas vías de señalización presenta oportunidades prometedoras de intervención para terapias dirigidas contra el cáncer (Sawyers, C. Targeted cancer therapy. *Nature* **2004**, 432, 294–297).

15

20 Los documentos WO 2015/112806 A2 y WO 2017/004342 A1 se refieren a derivados dialquil macrocíclicos quirales, a composiciones farmacéuticas que contienen los mismos y a dichas composiciones para uso en métodos para tratar el cáncer, el dolor, las enfermedades neurológicas, las enfermedades autoinmunes y la inflamación. El documento WO 2017/015367 A1 describe ciertos compuestos diaril macrocíclicos, específicamente (7S13R)-11-fluoro-7,13-di-metil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriacicotridecin-4(5H)-ona para su uso en el tratamiento de enfermedades en mamíferos. El documento WO 2018/022911 A1, que tiene fechas coincidentes con el presente caso, se refiere a inhibidores de quinasas macrocíclicos, a composiciones farmacéuticas que contienen los mismos, y a dichos compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades. MET, también llamado receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR), se descubrió en 1984 (Cooper, C. S., et al Molecular cloning of a new transforming gene from a chemically transformed human cell line. *Nature* **1984**, 311, 29–33). El factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), también conocido como factor de dispersión (SF), es el ligando natural de alta afinidad de MET (Bottaro DP et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science*. **1991**, *251* (4995), 802–804). La vía de señalización de HGF/MET está implicada en el crecimiento invasivo durante el desarrollo embrionario, la regeneración de órganos postnatal, la curación de heridas y los procesos de regeneración de tejidos. Sin embargo, el eje HGF/MET es frecuentemente secuestrado por células cancerosas para tumorigénesis, crecimiento invasivo y metástasis (Boccaccio, C.; Comoglio, P. M. Invasive growth: a MET-driven generic programme for cancer and stem cells. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 637–645). Las desregulaciones de MET y/o HGF a través de la activación de mutaciones, amplificaciones genéticas, sobreexpresión y regulación del bucle autocrina o paracrina influyen en el crecimiento celular, la proliferación, la angiogénesis, la invasión, la supervivencia y la metástasis, lo que conduce a la tumorigénesis y la progresión

25

30

35

40

45

50

55

60

65

70

75

80

85

90

95

100

105

110

115

120

125

130

135

140

145

150

155

160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

290

295

300

305

310

315

320

325

330

335

340

345

350

355

360

365

370

375

380

385

390

395

400

405

410

415

420

425

430

435

440

445

450

455

460

465

470

475

480

485

490

495

500

505

510

515

520

525

530

535

540

545

550

555

560

565

570

575

580

585

590

595

600

605

610

615

620

625

630

635

640

645

650

655

660

665

670

675

680

685

690

695

700

705

710

715

720

725

730

735

740

745

750

755

760

765

770

775

780

785

790

795

800

805

810

815

820

825

830

835

840

845

850

855

860

865

870

875

880

885

890

895

900

905

910

915

920

925

930

935

940

945

950

955

960

965

970

975

980

985

990

995

1000

1005

1010

1015

1020

1025

1030

1035

1040

1045

1050

1055

1060

1065

1070

1075

1080

1085

1090

1095

1100

1105

1110

1115

1120

1125

1130

1135

1140

1145

1150

1155

1160

1165

1170

1175

1180

1185

1190

1195

1200

1205

1210

1215

1220

1225

1230

1235

1240

1245

1250

1255

1260

1265

1270

1275

1280

1285

1290

1295

1300

1305

1310

1315

1320

1325

1330

1335

1340

1345

1350

1355

1360

1365

1370

1375

1380

1385

1390

1395

1400

1405

1410

1415

1420

1425

1430

1435

1440

1445

1450

1455

1460

1465

1470

1475

1480

1485

1490

1495

1500

1505

1510

1515

1520

1525

1530

1535

1540

1545

1550

1555

1560

1565

1570

1575

1580

1585

1590

1595

1600

1605

1610

1615

1620

1625

1630

1635

1640

1645

1650

1655

1660

1665

1670

1675

1680

1685

1690

1695

1700

1705

1710

1715

1720

1725

1730

1735

1740

1745

1750

1755

1760

1765

1770

1775

1780

1785

1790

1795

1800

1805

1810

1815

1820

1825

1830

1835

1840

1845

1850

1855

1860

1865

1870

1875

1880

1885

1890

1895

1900

1905

1910

1915

1920

1925

1930

1935

1940

1945

1950

1955

1960

1965

1970

1975

1980

1985

1990

1995

2000

2005

2010

2015

2020

2025

2030

2035

2040

2045

2050

2055

2060

2065

2070

2075

2080

2085

2090

2095

2100

2105

2110

2115

2120

2125

2130

2135

2140

2145

2150

2155

2160

2165

2170

2175

2180

2185

2190

2195

2200

2205

2210

2215

2220

2225

2230

2235

2240

2245

2250

2255

2260

2265

2270

2275

2280

2285

2290

2295

2300

2305

2310

2315

2320

2325

2330

2335

2340

2345

2350

2355

2360

2365

2370

2375

2380

2385

2390

2395

2400

2405

2410

2415

2420

2425

2430

2435

2440

2445

2450

2455

2460

2465

2470

2475

2480

2485

2490

2495

2500

2505

2510

2515

2520

2525

2530

2535

2540

2545

2550

2555

2560

2565

2570

2575

2580

2585

2590

2595

2600

2605

2610

2615

2620

2625

2630

2635

2640

2645

2650

2655

2660

2665

2670

2675

2680

2685

2690

2695

2700

2705

2710

2715

2720

2725

2730

2735

2740

2745

2750

2755

2760

2765

2770

2775

2780

2785

2790

2795

2800

2805

2810

2815

2820

2825

2830

2835

2840

2845

2850

2855

2860

2865

2870

2875

2880

2885

2890

2895

2900

2905

2910

2915

2920

2925

2930

2935

2940

2945

2950

2955

2960

2965

2970

2975

2980

2985

2990

2995

3000

3005

3010

3015

3020

3025

3030

3035

3040

3045

3050

3055

3060

3065

3070

3075

3080

3085

3090

3095

3100

3105

3110

3115

3120

3125

3130

3135

3140

3145

3150

3155

3160

3165

3170

3175

3180

3185

3190

3195

3200

3205

3210

3215

3220

3225

3230

3235

3240

3245

3250

3255

3260

3265

3270

3275

3280

3285

3290

3295

3300

3305

3310

3315

3320

3325

3330

3335

3340

3345

3350

3355

3360

3365

3370

3375

3380

3385

3390

3395

3400

3405

3410

3415

3420

3425

3430

3435

3440

3445

3450

3455

3460

3465

3470

3475

3480

3485

3490

3495

3500

3505

3510

3515

3520

3525

3530

3535

3540

3545

3550

3555

3560

3565

3570

3575

3580

3585

3590

3595

3600

3605

3610

3615

3620

3625

3630

3635

3640

3645

3650

3655

3660

3665

3670

3675

3680

3685

3690

3695

3700

3705

3710

3715

3720

3725

3730

3735

3740

3745

3750

3755

3760

3765

3770

3775

3780

3785

3790

3795

3800

3805

3810

3815

3820

3825

3830

3835

3840

3845

3850

3855

3860

3865

3870

3875

3880

3885

3890

3895

3900

3905

3910

3915

3920

3925

3930

3935

3940

3945

3950

3955

3960

3965

3970

3975

3980

3985

3990

3995

4000

4005

4010

4015

4020

4025

4030

4035

4040

4045

4050

4055

4060

4065

4070

4075

4080

4085

4090

4095

4100

4105

4110

4115

4120

4125

4130

4135

4140

4145

4150

4155

4160

4165

4170

4175

4180

4185

4190

4195

4200

4205

4210

4215

4220

4225

4230

4235

4240

4245

4250

4255

4260

4265

4270

4275

4280

4285

4290

4295

4300

4305

4310

4315

4320

4325

4330

4335

4340

4345

4350

4355

4360

4365

4370

4375

4380

4385

4390

4395

4400

4405

4410

4415

4420

4425

4430

4435

4440

4445

4450

4455

4460

4465

4470

4475

4480

4485

4490

4495

4500

4505

4510

4515

4520

4525

4530

4535

4540

4545

4550

4555

4560

4565

4570

4575

4580

4585

4590

4595

4600

4605

4610

4615

4620

4625

4630

4635

4640

4645

4650

4655

4660

4665

4670

4675

4680

4685

4690

4695

4700

4705

4710

4715

4720

4725

4730

4735

4740

4745

4750

4755

4760

4765

4770

4775

4780

4785

4790

4795

4800

4805

4810

4815

4820

4825

4830

4835

4840

4845

4850

4855

4860

4865

4870

4875

4880

4885

4890

4895

4900

4905

4910

4915

4920

4925

4930

4935

4940

4945

4950

4955

4960

4965

4970

4975

4980

4985

4990

4995

5000

5005

5010

5015

5020

5025

5030

5035

5040

5045

5050

5055

5060

5065

5070

5075

5080

5085

5090

5095

5100

5105

5110

5115

5120

5125

5130

5135

5140

5145

5150

5155

5160

5165

5170

5175

5180

5185

5190

5195

5200

5205

5210

5215

5220

5225

5230

5235

5240

5245

5250

5255

5260

5265

5270

5275

5280

5285

5290

5295

5300

5305

5310

5315

5320

5325

5330

5335

5340

5345

5350

5355

5360

5365

5370

5375

5380

5385

5390

5395

5400

5405

5410

5415

5420

5425

5430

5435

5440

5445

5450

5455

5460

5465

5470

5475

5480

5485

5490

5495

5500

5505

5510

5515

5520

5525

5530

5535

5540

5545

5550

5555

5560

5565

5570

5575

5580

5585

5590

5595

5600

5605

the MET receptor tyrosine kinase in acute myeloid leukemia. *Nat. Med.* **2012**, 18, 1118–1122).

La regulación positiva de la señalización de HGF/MET se ha informado con frecuencia como señalización compensatoria para conferir resistencia a las terapias dirigidas a quinasas. Se ha detectado la amplificación MET en el 4%-20% de los pacientes con NSCLC con mutaciones EGFR que adquirieron resistencia al tratamiento con gefitinib o erlotinib (Sequist, L. V., et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin. Cancer Res.* **2013**, 19, 2240–2247). La regulación positiva del ligando HGF representa otro mecanismo de resistencia EGFR-TKI. Se descubrió una alta expresión de HGF entre las muestras clínicas con resistencia adquirida que no tenían una mutación T790M o amplificación MET, así como entre los casos que exhibieron resistencia primaria a pesar de tener mutaciones del gen EGFR activadoras sensibles a EGFR-TKI (Yano, S., et al. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. *Cancer Res.* **2008**, 68, 9479–9487). La amplificación de MET está asociada con la resistencia adquirida a cetuximab o panitumumab en pacientes con cáncer colorrectal metastásico que no desarrollan mutaciones KRAS durante la terapia anti-EGFR (Bardelli, A., et al. Amplification of the MET Receptor Drives Resistance to Anti-EGFR Therapies in Colorectal Cancer. *Cancer Discov.* **2013**, 3, 658–673). La resistencia impulsada por el factor de crecimiento del microambiente tumoral representa un mecanismo común potencial para los inhibidores de la quinasa anticancerígenos. La regulación positiva del HGF estromal confiere resistencia al inhibidor de BRAF ramurafenib en células de melanoma mutantes de BRAF (Straussman, R., et al. Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature* **2012**, 487, 500–504). Se informó que la activación mediada por ligando de tirosina quinasas receptoras alternativas se observó en las células cancerosas originalmente dependientes de MET, FGFR2 o FGFR3, y RTK de las familias HER y EGFR, así como MET compensaron la pérdida mutua (Harbinski, F., et al. Rescue screens with secreted proteins reveal compensatory potential of receptor tyrosine kinases in driving cancer growth. *Cancer Discov.* **2012**, 2, 948–959). Por lo tanto, el bloqueo de las respuestas celulares adaptativas que impulsan la expresión del ligando compensatorio es necesario para lograr efectos antitumorales óptimos y sostenidos.

La mutación oncogénica de K-Ras ocurre con frecuencia en cánceres, que incluyen cánceres pancreáticos, gástricos y pulmonares. Los cánceres mutantes de K-Ras dependen más de K-Ras en condiciones de cultivo independientes del anclaje que en condiciones de cultivo en monocapa. La expresión Met mejorada y la señalización es esencial para el crecimiento independiente del anclaje de las células cancerosas mutantes K-Ras y sugiere que los inhibidores farmacológicos de MET podrían ser efectivos para los pacientes con tumor mutante K-Ras (Fujita-Sato, S., et al. Enhanced MET Translation and Signaling Sustains K-Ras-Driven Proliferation under Anchorage-Independent Growth Conditions. *Cancer Res.* **2015**, 75, 2851–2862).

Las tirosina quinasas citoplasmáticas de la familia SRC (SFK) desempeñan papeles importantes en la transducción de señales inducidas por una gran cantidad de estímulos extracelulares que incluyen factores de crecimiento e integrinas (Parsons, S. J., et al. Src family kinases, key regulators of signal transduction. *Oncogene* **2004**, 23, 7906–7909). Se ha informado una expresión elevada de la tirosina quinasa SRC no receptora y/o una mayor actividad de la quinasa SRC en una amplia variedad de cánceres humanos, que incluyen los cánceres de mama, colon, pulmón y cabeza y cuello. Se informó que la activación incrementada de SRC y STAT3 está asociada con muchos cánceres epiteliales y está relacionada con la expresión de varios factores de crecimiento, tal como el factor de crecimiento endotelial vascular y el HGF. SRC y STAT3 pueden actuar de manera cooperativa como reguladores corriente arriba de la expresión de HGF, lo que resulta en el establecimiento de un bucle autocrino de HGF, amplificación de señal y un fenotipo invasivo (Wojcik, E. J., et al. A novel activating function of SRC and STAT3 on HGF transcription in mammary carcinoma cells. *Oncogene* **2006**, 25, 2773–84). Por lo tanto, dirigirse a la vía de señalización SRC/STAT3 puede ser efectivo para la interrupción de los bucles autocrinos de HGF en los cánceres. Los inhibidores de EGFR tienen buena respuesta solo en pacientes NSCLC EGFR-mutantes. La activación de EGFR de tipo silvestre de fenotipos invasivos depende en gran medida de la señalización EGFR-SRC-MET a través de la vía independiente de HGF (Dulak AM, et al. HGF-independent potentiation of EGFR action by MET. *Oncogene* **2011**, 30, 3625–3635). Los ligandos EGFR inducen la acumulación de MET activado, que comienza a las 8 h y continúa durante 48 h, lo que lleva a un aumento en la expresión de MET y la fosforilación de residuos críticos de tirosina MET sin la activación de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) o AKT. Esta señalización lateral relacionada con la transcripción génica está asociada con la fosforilación prolongada de SRC, y la vía SRC está implicada con la comunicación EGFR a MET. Aunque el EGFR se sobreexpresa en alrededor de 90% del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), los inhibidores de EGFR desarrollados hasta la fecha tienen una eficacia clínica limitada. Por ejemplo, la activación independiente de ligando de MET contribuye específicamente a la resistencia a erlotinib en HNSCC con SRC activado, donde la activación de MET depende más de SRC que de EGFR, proporcionando una vía de supervivencia alternativa (Stabile, L. P., et al. c-SRC activation mediates erlotinib resistance in head and neck cancer by stimulating MET. *Clin Cancer Res.* **2012**, 19, 1–13). La activación aberrante de SRC se ha demostrado en numerosos tumores epiteliales, que incluyen HNSCC. La inhibición de SRC resultó en una reducción universal y profunda de la invasión y migración de líneas celulares HNSCC, pero produjo citotoxicidad en algunas de las líneas celulares HNSCC. La activación sostenida de MET media la resistencia a la inhibición de SRC. Los efectos citotóxicos sinérgicos de la inhibición de SRC y MET se observaron en las líneas celulares de HNCC (Sen, B., et al. Distinct interactions between SRC and MET in mediating resistance to SRC inhibition in head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* **2010**, 17, 1–11).

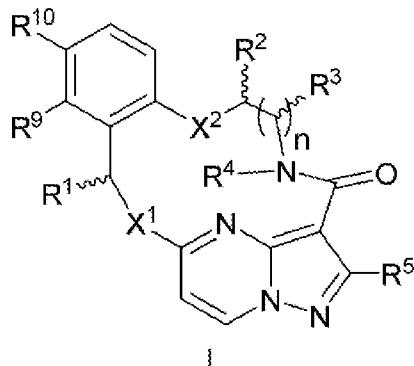
Se informó que la activación de MET inducida por cetuximab condujo a la resistencia a cetuximab en células de cáncer de colon Caco-2, y la activación de SRC promovió la resistencia a cetuximab al interactuar con MET a través de la formación del complejo MET/SRC/EGFR (Song N, et al. *Cetuximab-induced MET activation acts as a novel resistance mechanism in colon cancer cells*. *Int J Mol Sci.* **2014**, 15, 5838-5851). El SRC es un transductor clave 5 corriente abajo del crecimiento tumoral impulsado por MET. La inhibición de SRC en las líneas celulares de carcinoma gástrico adicto a Met mejoró la sensibilidad celular a la inhibición de MET que respalda el potencial terapéutico del tratamiento combinatorio con inhibidores de MET y SRC (Bertotti, A., et al. *Inhibition of SRC impairs the growth of MET-addicted gastric tumors*. *Clin Cancer Res.* 2010, 16, 3933-3943). Aunque la señalización de HGF/MET está implicada en el desarrollo del cáncer colorrectal (CCR), se ha demostrado que la inhibición de MET 10 solo tiene una eficacia limitada. La activación de SRC fue esencial para la activación dependiente e independiente de ligando de MET. La inhibición combinada de MET y SRC mejoró la inhibición de la proliferación celular y la apoptosis en células de cáncer de colon RAS mutantes y de tipo silvestre (Song, N., et al. *Dual inhibition of MET and SRC kinase activity as a combined targeting strategy for colon cancer*. *Exp Ther Med* etm.2017.4692).

15 El CSF1R, también conocido como FMS, es un receptor para el factor estimulante de colonias 1, una citocina que controla la producción, diferenciación y función de los macrófagos. La inflamación no resuelta en el microambiente tumoral es un sello distintivo del cáncer y está asociada con los macrófagos polarizados con M2. Los macrófagos asociados a tumores (TAM) se parecen más a los macrófagos polarizados con M2 y juegan un papel importante en la promoción de la proliferación, invasión y metástasis de cáncer (Yang L, et al. *Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application*. *J Hematol Oncol.* **2017**, 10, 58). La función promotora de tumores de los TAM se basa en su capacidad para secretar factores proangiogénicos y de crecimiento, así como para suprimir de manera potente la función efectora de las células T al liberar citocinas inmunosupresoras y afectar su metabolismo (Ries CH, et al. *Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF1R antibody reveals a strategy for cancer therapy*. *Cancer Cell.* 2014, 25, 846-859). Aunque los anticuerpos monoclonales anti-PD-1 (mAbs) dirigidos al punto 20 de control inmunitario han demostrado beneficios para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, estos fármacos no siempre son efectivos. Estudios recientes indicaron que la eficacia de los mAbs anti-PD-1 se vio afectada por la absorción de las células T CD8+ infiltrantes de tumor PD-1+ unidas a mAbs anti-PD-1 por los macrófagos asociados al tumor PD-1-. Las terapias de combinación diseñadas para atacar a los macrófagos tumorales y anti-PD-1, pueden proporcionar un beneficio adicional al aumentar el suministro de fármacos de bloqueo del punto de control inmune a 25 las células T CD8+, mejorando así la actividad de la inmunoterapia (Arlauckas SP, et al. *In vivo imaging reveals a tumor-associated macrophage-mediated resistance pathway in anti-PD-1 therapy*. *Sci Transl Med.* **2017**, 9(389). pii: eaal3604). La supervivencia de los TAM está mediada por la señalización a través del receptor del factor 1 estimulante de colonias (CSF1R), y la inhibición de la señalización del CSF1R reduce los TAM y aumenta la relación 30 de células T CD8/CD4 en pacientes con tumores sólidos avanzados. Por lo tanto, dirigirse a la señalización de CSF1R que conduce a la modulación de TAM es una estrategia terapéutica prometedora en varios tumores sólidos, como un agente único o en combinación con agentes quimioterapéuticos de cuidado e inmunoterapias estándar. La coexpresión de CSF1R y CSF1 se detecta con mayor frecuencia en tumores invasivos. La activación autocrina de CSF-1R indujo hiperproliferación e interrupción de la integridad de la unión en estructuras acinares formadas por 35 células epiteliales mamarias humanas en cultivo tridimensional a través de un mecanismo dependiente de SRC (Wrobel CN, et al. *Autocrine CSF1R activation promotes SRC-dependent disruption of mammary epithelial architecture*. *J Cell Biol.* **2004**, 165, 263-273). La inhibición de CSF-1R y SRC puede resultar una estrategia valiosa en el tratamiento de tumores invasivos. El tumor de células gigantes tenosinoviales (TGCT) o la sinovitis villonodular pigmentada (PVNS) es una proliferación neoplásica clonal que surge de las células que sobreexpresan CSF1 que reclutan macrófagos polícílicos portadores de CSF1R y constituyen la mayor parte del tumor. La inhibición de 40 CSF1R usando inhibidores de moléculas pequeñas puede conducir a una mejora en la articulación afectada (Ravi V, et al. *Treatment of tenosynovial giant cell tumor and pigmented villonodular synovitis*. *Curr Opin Oncol.* **2011**, 23, 361-366).

45 En un resumen, la activación aberrante de la vía HGF/MET se ha encontrado con frecuencia en cánceres humanos a través de la sobreexpresión de proteínas, mutación, amplificación génica y también regulación positiva paracrína o autocrína. Además, la activación de la señalización de HGF/MET confiere resistencia a las terapias contra el cáncer. La activación de SRC está implicada para la activación dependiente e independiente de ligando de MET. CSF1R juega un papel importante en la regulación de macrófagos asociados a tumores. Por lo tanto, la inhibición polifarmacológica de MET/SRC/CSF1R tiene un gran potencial para intervenciones terapéuticas en cánceres. Hasta 50 la fecha, los compuestos que inhiben MET/SRC y/o CSF1R han sido esquivos. Como tal, existe una importante necesidad insatisfecha.

Breve descripción de la invención

55 60 En un aspecto, la descripción se refiere a un compuesto de la Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

X^1 y X^2 son independientemente $-CR^6R^7-$, S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁸);

En otro aspecto, la descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula

I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y opcionalmente al menos uno o más de un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 En otro aspecto, la descripción se dirige a los compuestos de la invención para uso en un método para tratar el cáncer en un paciente que comprende,

10 a. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello.

En otro aspecto, la descripción se dirige a los compuestos de la invención para uso en un método para tratar el cáncer en un paciente que comprende,

15 a. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R; y b. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. En algunas modalidades de este aspecto, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades de este aspecto, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello.

25 En otro aspecto, la descripción se dirige a un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello.

30 En otro aspecto, la descripción se dirige a un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. En algunas modalidades de este aspecto, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades de este aspecto, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello.

35 40 En otro aspecto, la descripción se dirige a un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. En algunas modalidades de este aspecto, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades de este aspecto, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.

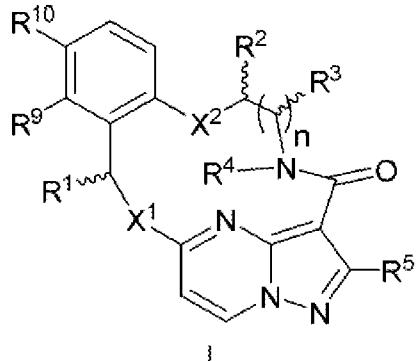
45 50 En otro aspecto, la descripción se dirige a una composición que comprende un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad terapéuticamente efectiva, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma, o cáncer de cabeza y cuello. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. En algunas modalidades de este aspecto, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades de este aspecto, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.

55 60 En aún otro aspecto, la descripción se refiere a una composición sinérgica de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, y un inhibidor de EGFR, donde los dos componentes entran en contacto entre sí en un locus. En algunas modalidades de este aspecto, el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I.

65 66 Las modalidades, características y ventajas adicionales de la descripción serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y mediante la práctica de la descripción. Los compuestos de la presente descripción pueden

describirse como modalidades en cualquiera de las siguientes cláusulas enumeradas. Se entenderá que cualquiera de las modalidades descritas aquí puede usarse en conexión con cualquier otra modalidad descrita aquí en la medida en que las modalidades no se contradigan entre sí.

5 1. Un compuesto de la Fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X^1 y X^2 son independientemente -CR⁶R⁷-, S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁸); R¹ es H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, C(O)OR⁸ o

C_6), -N(alquilo C_1-C_6)S(O)₂(alquilo C_1-C_6), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C_1-C_6)S(O)NH₂, -N(alquilo C_1-C_6)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C_1-C_6), -NHS(O)₂NH(alquilo C_1-C_6), -NHS(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, -NHS(O)₂N(alquilo C_1-C_6)₂, -N(alquilo C_1-C_6)S(O)NH(alquilo C_1-C_6), -N(alquilo C_1-C_6)S(O)₂NH(alquilo C_1-C_6), -N(alquilo C_1-C_6)S(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, -N(alquilo C_1-C_6)S(O)₂N(alquilo C_1-C_6)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C_1-C_6 , -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C_1-C_6), -C(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, -S-alquilo C_1-C_6 , -S(O)-alquilo C_1-C_6 , -S(O)₂alquilo C_1-C_6 , -S(O)NH(alquilo C_1-C_6), -S(O)₂NH(alquilo C_1-C_6), -S(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, -S(O)₂N(alquilo C_1-C_6)₂, -P(alquilo C_1-C_6)₂, -P(O)(alquilo C_1-C_6)₂, cicloalquilo C_3-C_6 , o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

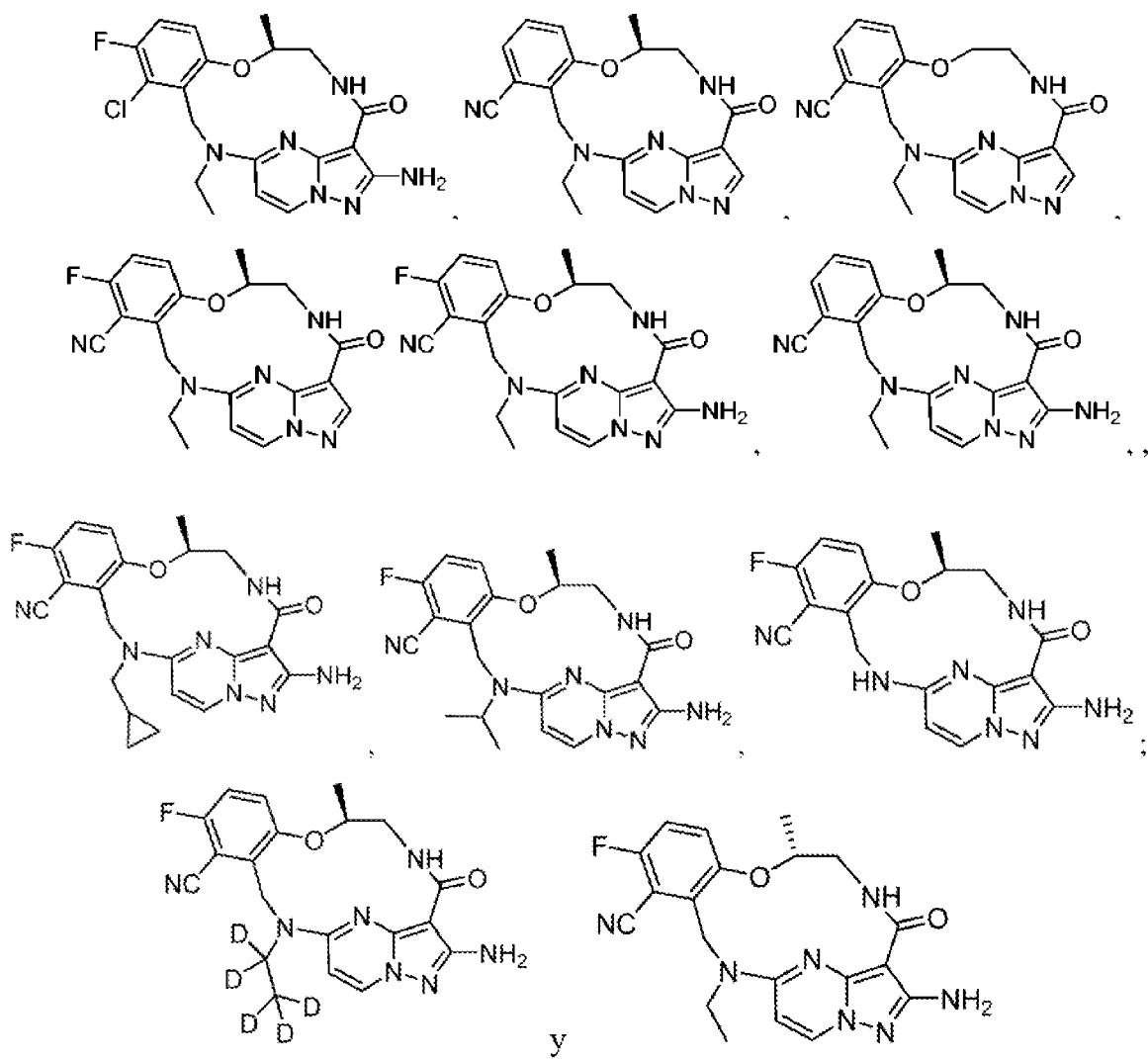
alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O-alquilo C₁-C₆, -NHS(O)(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S-alquilo C₁-C₆, -S(O)-alquilo C₁-C₆, -S(O)₂-alquilo C₁-C₆, -S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂,

-S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -P(alquilo C₁-C₆)₂, -P(O)(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros; o R² y R³ tomados junto con los átomos de carbono a los que están unidos forman opcionalmente un cicloalquilo C₅-C₇ o un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros; o R² y R⁴ tomados junto con los átomos a los que están unidos forman opcionalmente un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros;

R⁴ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo monocíclico de 5 a 7 miembros;

miembros,
 R^5 es $-NR^6R^7$;
cada R^6 , R^7 y R^8 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆; en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, fluoro, cloro, bromo, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, NH(alquilo C₁-C₆), N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₇, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 a 7 miembros, -CO₂H, C(O)O-alquilo

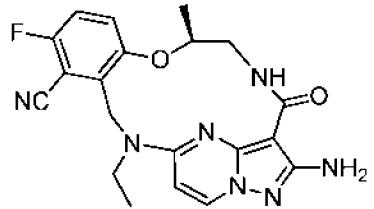
C₁-C₆, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂;
 R⁹ es H, fluoro, cloro, bromo, -CN, -CF₃, -CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) y C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂;
 R¹⁰ es H, fluoro, cloro o bromo; y
 n es 1 o 2.



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

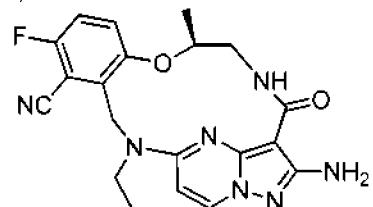
5

16. El compuesto de la cláusula 1, con la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 17. El compuesto de la cláusula 1, con la estructura:



18. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 17, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos uno o más de un diluyente, portador o excipiente

farmacéuticamente aceptable.

19. Un compuesto de fórmula tal como se define en la cláusula 1 para su uso en un método para tratar el cáncer en un paciente que comprende,

- 5 a. administrando una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R.
- 20. El compuesto de la cláusula 19, en donde el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la fórmula de cualquiera de las cláusulas 1 a 17.
- 10 21. El compuesto de la cláusula 19 o 20, en donde el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.
- 22. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 19 a 21, que comprende además

 - b. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional.

- 15 23. El compuesto de la cláusula 22, en donde el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 24. El compuesto de la cláusula 22, en donde el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.
- 25 25. El compuesto de la cláusula 24, en donde el anticuerpo de EGFR es cetuximab, necitumumab o panitumumab.
- 26. El compuesto de la cláusula 22, en donde el agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de molécula pequeña de EGFR.
- 27. El compuesto de la cláusula 26, en donde el inhibidor de molécula pequeña de EGFR es afatinib, brigatinib, canertinib, dacomitinib, erlotinib, gefitinib, HKI 357, lapatinib, osimertinib, naquatinib, nazartinib, neratinib, olmutinib, pelitinib, PF-06747775, rociletinib, vandetanib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 28. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 22, 26 o 27, en donde el agente anticancerígeno adicional es gefitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 29. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 22, 26 o 27, en donde el agente anticancerígeno adicional es osimertinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 30 30. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 22, 26 o 27, en donde el agente anticancerígeno adicional es erlotinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 31. Un compuesto de fórmula I tal como se define en la cláusula 1 que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento del cáncer en un paciente.
- 32. El compuesto de la cláusula 31, en donde el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la fórmula de cualquiera de las cláusulas 1 a 15.
- 33. El compuesto de la cláusula 31 o 32, en donde el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.
- 34. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 31 a 33, en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional.
- 35 35. El compuesto de la cláusula 34, en donde el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 36. El compuesto de la cláusula 34, en donde el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.
- 37. El compuesto de la cláusula 36, en donde el anticuerpo de EGFR es cetuximab, necitumumab o panitumumab.
- 38. El compuesto de la cláusula 34, en donde el agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de molécula pequeña de EGFR.
- 39. El compuesto de la cláusula 38, en donde el inhibidor de molécula pequeña de EGFR es afatinib, brigatinib, canertinib, dacomitinib, erlotinib, gefitinib, HKI 357, lapatinib, osimertinib, naquatinib, nazartinib, neratinib, olmutinib, pelitinib, PF-06747775, rociletinib, vandetanib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 40 40. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 34, 38 o 39, en donde el agente anticancerígeno adicional es gefitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 41. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 34, 38 o 39, en donde el agente anticancerígeno adicional es osimertinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 42. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 34, 38 o 39, en donde el agente anticancerígeno adicional es erlotinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 43. Uso de un compuesto de fórmula I tal como se define en la cláusula 1 que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento del cáncer.
- 44. El uso de la cláusula 43, en donde el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la fórmula de cualquiera de las cláusulas 1 a 15.
- 45. El uso de la cláusula 43 o 44, en donde el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.
- 46. El uso de cualquiera de las cláusulas 43 a 45, en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional.
- 47. El uso de la cláusula 46, en donde el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 48. El uso de la cláusula 46, en donde el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.
- 49. El uso de la cláusula 48, en donde el anticuerpo de EGFR es cetuximab, necitumumab o panitumumab.
- 50. El uso de la cláusula 46, en donde el agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de molécula pequeña de

EGFR.

51. El uso de la cláusula 50, en donde el inhibidor de molécula pequeña de EGFR es afatinib, brigatinib, canertinib, dacomitinib, erlotinib, gefitinib, HKI 357, lapatinib, osimertinib, naquatinib, nazartinib, neratinib, olmutinib, pelitinib, PF- 06747775, rociletinib, vandetanib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 52. El uso de cualquiera de las cláusulas 46, 50 o 51, en donde el agente anticancerígeno adicional es gefitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

53. El uso de cualquiera de las cláusulas 46, 50 o 51, en donde el agente anticancerígeno adicional es osimertinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 54. El uso de cualquiera de las cláusulas 46, 50 o 51, en donde el agente anticancerígeno adicional es erlotinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55. Una composición que comprende un compuesto de fórmula I tal y como se define en la cláusula 1 que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad terapéuticamente efectiva, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente.

15 56. La composición de la cláusula 55, en donde el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la fórmula de cualquiera de las cláusulas 1 a 18.

57. La composición de la cláusula 54 o 55, en donde el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

58. La composición de cualquiera de las cláusulas 55 a 57, en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional.

20 59. La composición de la cláusula 58, en donde el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60. La composición de la cláusula 58, en donde el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.

61. La composición de la cláusula 60, en donde el anticuerpo de EGFR es cetuximab, necitumumab o panitumumab.

25 62. La composición de la cláusula 58, en donde el agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de molécula pequeña de EGFR.

63. La composición de la cláusula 62, en donde el inhibidor de molécula pequeña de EGFR es afatinib, brigatinib, canertinib, dacomitinib, erlotinib, gefitinib, HKI 357, lapatinib, osimertinib, naquatinib, nazartinib, neratinib, olmutinib, pelitinib, PF-06747775, rociletinib, vandetanib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 64. La composición de cualquiera de las cláusulas 58, 62 o 63, en donde el agente anticancerígeno adicional es gefitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65. La composición de cualquiera de las cláusulas 58, 62 o 63, en donde el agente anticancerígeno adicional es osimertinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

66. La composición de cualquiera de las cláusulas 58, 62 o 63, en donde el agente anticancerígeno adicional es erlotinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 67. Una composición sinérgica de un compuesto de la fórmula I tal y como se define en la cláusula 1 que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, y un inhibidor de EGFR, donde los dos componentes entran en contacto entre sí en un locus.

68. La composición sinérgica de la cláusula 67, en donde el compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la fórmula de cualquiera de las cláusulas 1 a 15.

69. La composición sinérgica de la cláusula 67 o 68, en donde el locus es un paciente.

40 70. La composición sinérgica de la cláusula 67 o 68, en donde el locus es un cáncer.

71. La composición sinérgica de la cláusula 70, en donde el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

72. La composición sinérgica de cualquiera de las cláusulas 67 a 71, en donde el inhibidor de EGFR es un anticuerpo de EGFR.

45 73. La composición sinérgica de la cláusula 72, en donde el anticuerpo de EGFR es cetuximab, necitumumab o panitumumab.

74. La composición sinérgica de cualquiera de las cláusulas 67 a 71, en donde el inhibidor de EGFR es un inhibidor de molécula pequeña de EGFR.

50 75. La composición sinérgica de la cláusula 74, en donde el inhibidor de molécula pequeña de EGFR es afatinib, brigatinib, canertinib, dacomitinib, erlotinib, gefitinib, HKI 357, lapatinib, osimertinib, naquatinib, nazartinib, neratinib, olmutinib, pelitinib, PF-06747775, rociletinib, vandetanib o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

76. La composición sinérgica de cualquiera de las cláusulas 67-71, 74 o 75, en donde el inhibidor de EGFR es gefitinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 77. La composición sinérgica de cualquiera de las cláusulas 67-71, 74 o 75, en donde el inhibidor de EGFR es osimertinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

78. La composición sinérgica de cualquiera de las cláusulas 67-71, 74 o 75, en donde el inhibidor de EGFR es erlotinib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Breve descripción de los dibujos

60 La figura 1 muestra una imagen de gel de estudios de fosforilación de MET en células SNU-5 después de 4 horas de incubación con el Compuesto 5. El gel muestra que el Compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET en células SNU-5.

65 La figura 2 muestra una imagen de gel de estudios de fosforilación de MET y efectores corriente abajo en células MKN-45 después de 16 horas de incubación con el Compuesto 5. El gel muestra que el Compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET y efectores corriente abajo en células MKN-45.

- 5 La figura 3 es un gráfico que muestra los efectos del Compuesto 5, capmatinib y AZD9291 sobre la proliferación celular de HCC827. Se observó una fuerte actividad sinérgica en la combinación de AZD9291 con el Compuesto 5 con una IC₅₀ de 2 nM y Emax 71% en el ensayo de proliferación celular HCC827. (▼) capmatinib (IC₅₀: >10000 nM, Emax%: -), (▲) Compuesto 5 (IC₅₀: 3000 nM, Emax%:-), (■) AZD9291 (IC₅₀: 5 nM (parcial), Emax%: 47), (◆) capmatinib (1 μM) + AZD9291 (IC₅₀: 5 nM (parcial), Emax%: 47), (●) Compuesto 5 (1 μM) + AZD9291 (IC₅₀: 2 nM, Emax%: 71).
- 10 La figura 4 muestra los efectos del Compuesto 5, capmatinib, AZD9291 y combinaciones sobre la apoptosis de las células HCC827 después de 48 horas de incubación. El compuesto 5 sinergizado con AZD9291 para la apoptosis en la línea celular HCC827.
- 15 La figura 5 muestra un ensayo de curación de heridas en el que el Compuesto 5 y capmatinib inhibieron la migración celular de células MKN-45.
- 20 La figura 6 muestra un ensayo de curación de heridas en el que el Compuesto 5 inhibió la migración celular de HCC827, y capmatinib mostró un efecto mínimo.
- 25 La figura 7 es un gráfico que muestra el efecto del Compuesto 5 sobre el crecimiento tumoral en el modelo de xenoinjerto MKN-45. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 3 mg/kg BID, (▲) Compuesto 5 a 10 mg/kg BID, (▼) Compuesto 5 a 30 mg/kg BID.
- 30 La figura 8 muestra el efecto del Compuesto 5 sobre el peso corporal de ratones que tienen tumores de xenoinjerto MKN-45. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 3 mg/kg BID, (▲) Compuesto 5 a 10 mg/kg BID, (▼) Compuesto 5 a 30 mg/kg BID.
- 35 La figura 9 muestra una imagen de gel de estudios de inhibición de la fosforilación de MET por el Compuesto 5 en el modelo de xenoinjerto MKN-45.
- 40 La figura 10 es un gráfico que muestra el efecto del Compuesto 5 sobre la fosforilación de Met Y1234/1235 en tumores MKN-45. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 10 mg/kg 4 horas, (▲) Compuesto 5 a 10 mg/kg 12 horas, (▼) Compuesto 5 a 3 mg/kg 4 horas, (◆) Compuesto 5 a 3 mg/kg 12 Hrs.
- 45 La figura 11 es un gráfico que muestra la actividad antitumoral del Compuesto 5 en tumores LU2503 PDX. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 50 La figura 12 es un gráfico que muestra los pesos corporales de los ratones con tumores LU2503 PDX tratados con el Compuesto 5. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 55 La figura 13 es un gráfico que muestra la actividad antitumoral del Compuesto 5 en tumores BaF3 ETV6-CSF1R. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 5 mg/kg BID, (▲) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 60 La figura 14 es un gráfico que muestra los pesos corporales de los ratones con tumores LU25BaF3 ETV6-CSF1R tratados con el Compuesto 5. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 5 mg/kg BID, (▲) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 65 La figura 15 es un gráfico que muestra la actividad antitumoral del Compuesto 5 en el modelo de tumor de ratón sinérgico MC38. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 70 La figura 16 es un gráfico que muestra los pesos corporales de los ratones con el modelo de tumor de ratón sinérgico MC38 tratado con el Compuesto 5. (●) Vehículo, (■) Compuesto 5 a 15 mg/kg BID.
- 75 La figura 17A-17G son gráficos que muestran análisis FACS de muestras tumorales de cada grupo después del tratamiento del día 7 con el compuesto 5. La figura 17A muestra el % en células CD45+; células T CD8. La figura 17B muestra el % en células CD45+; Células T CD4. La figura 17C muestra el % en células CD45+; T-Reg. La figura 17D muestra el % en células CD45+; MDSCs. La figura 17E muestra el % en células CD45+; TAMs. La figura 17F muestra el % en células CD45+; M1 macrófagos. La figura 17G muestra el % en células CD45+; M2 macrófagos.
- 80 La figura 18A-18G son gráficos que muestran análisis FACS de muestras tumorales de cada grupo después del tratamiento del día 11 con el compuesto 5. La figura 18A muestra el % en células CD45+; Células T CD4. La figura 18B muestra el % en células CD45+; Células T CD8. La figura 18C muestra el % en células CD45+; T-Reg. La figura 18D muestra el % en células CD45+; MDSCs. La figura 18E muestra el % en células CD45+; TAMs. La figura 18F muestra el % en células CD45+; M1 macrófagos. La figura 18G muestra el % en células CD45+; M2 macrófagos.
- 85 La figura 19 es un gráfico que muestra la eficacia *in vivo* del Compuesto 5 en el modelo de tumor de ratón sinérgico MC38 subcutáneo. (●) G1-Vehículo + ISO IgG; (■) Compuesto 5; (▲) Anti-PD-1, (▼) Compuesto 5 + Anti-PD-1.
- 90 La figura 20 es un gráfico que muestra los pesos corporales de los ratones con el modelo de tumor de ratón sinérgico MC38 subcutáneo. (●) G1-Vehículo + ISO IgG; (■) Compuesto 5; (▲) Anti-PD-1, (▼) Compuesto 5 + Anti-PD-1.

55 Descripción detallada de la invención

Antes de que la presente descripción se describa adicionalmente, debe entenderse que esta descripción no se limita a modalidades particulares descritas, ya que, por supuesto, pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada aquí tiene el propósito de describir modalidades particulares solamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente descripción estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas.

95 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta descripción.

100 Como se usa aquí y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "la/el" incluyen referentes

plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración tiene la intención de servir como base antecedente para el uso de una terminología exclusiva como "únicamente", "solo" y similares en relación con la recitación de elementos de reivindicación, o el uso de una limitación "negativa".

5 Como se usa aquí, los términos "que incluye", "que contiene" y "que comprende" se usan en su sentido abierto y no limitante.

10 Para proporcionar una descripción más concisa, algunas de las expresiones cuantitativas dadas aquí no están calificadas con el término "acerca de". Se entiende que, ya sea que el término "alrededor de" se use explícitamente o no, cada cantidad dada aquí debe referirse al valor dado real, y también se refiere a la aproximación a dicho valor dado que razonablemente se deduciría basado en la habilidad ordinaria en la técnica, incluyendo equivalentes y 15 aproximaciones debido a las condiciones experimentales y/o de medición para dicho valor dado. Siempre que se da un rendimiento como porcentaje, dicho rendimiento se refiere a una masa de la entidad para la cual se da el rendimiento con respecto a la cantidad máxima de la misma entidad que podría obtenerse bajo las condiciones estequiométricas particulares. Las concentraciones que se dan como porcentajes se refieren a relaciones de masa, a menos que se indique de manera diferente.

20 Salvo que se indique lo contrario, los métodos y técnicas de las presentes modalidades se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en varias referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente especificación. Véase, por ejemplo, Loudon, Organic Chemistry, Cuarta edición, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001.

25 La nomenclatura química para los compuestos descritos aquí se ha derivado generalmente usando el ACD/Nombre 2014 disponible comercialmente (ACD/Labs) o ChemBioDraw Ultra 13,0 (Perkin Elmer).

30 Se aprecia que ciertas características de la descripción, que se describen, por claridad, en el contexto de modalidades separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una sola modalidad. A la inversa, varias características de la descripción, que, por brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las modalidades pertenecientes a los grupos químicos representados por las variables están específicamente abarcadas por la presente descripción y se describen aquí como si todas y cada una de las combinaciones se describan individual y explícitamente, en la medida en que tales combinaciones abarquen compuestos que son compuestos estables (es decir, compuestos que pueden aislarse, caracterizarse y analizarse para determinar su actividad biológica). Además, todas las subcombinaciones de los grupos químicos enumerados en las modalidades que describen tales variables también se incluyen específicamente en la presente descripción y se describen aquí como si cada una de estas subcombinaciones de grupos químicos se describieran individual y explícitamente aquí.

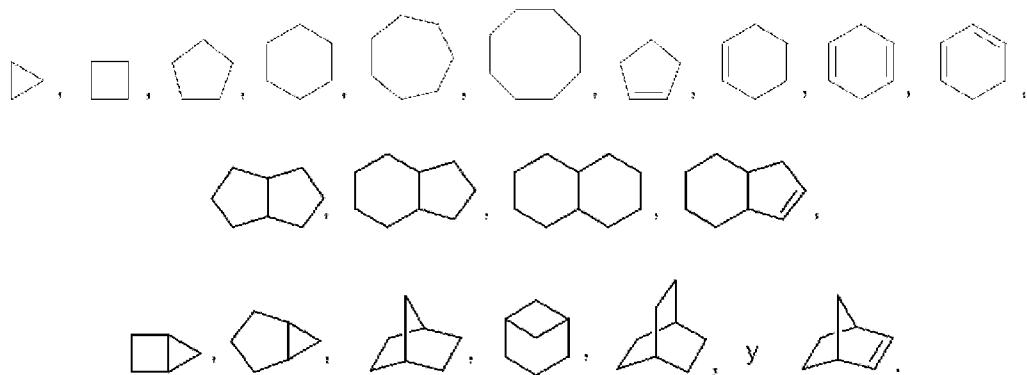
40 Definiciones

Como se usa aquí, el término "alquilo" significa una cadena de átomos de carbono, que está opcionalmente ramificada y contiene de 1 a 20 átomos de carbono. Debe entenderse además que, en ciertas modalidades, el alquilo puede ser ventajosamente de longitud limitada, incluyendo C₁-C₁₂, C₁-C₁₀, C₁-C₉, C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆ y C₁-C₄, 45 ilustrativamente, tales grupos alquilo de longitud particularmente limitada, que incluyen C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆ y C₁-C₄, y similares pueden denominarse "alquilo inferior". Los grupos alquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo y similares. Alquilo puede estar sustituido o no sustituido. Los grupos sustituyentes típicos 50 incluyen cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalícílico, hidroxi, alcoxi, ariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, ciano, halo, carbonilo, oxo, (=O), tiocarbonilo, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, nitro y amino, o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Se entenderá que "alquilo" puede combinarse con otros grupos, tales como los proporcionados anteriormente, para formar un alquilo funcionalizado. A modo de ejemplo, la combinación de un grupo "alquilo", como se describe aquí, 55 con un grupo "carboxi" puede denominarse un grupo "carboxialquilo". Otros ejemplos no limitantes incluyen hidroxialquilo, aminoalquilo y similares.

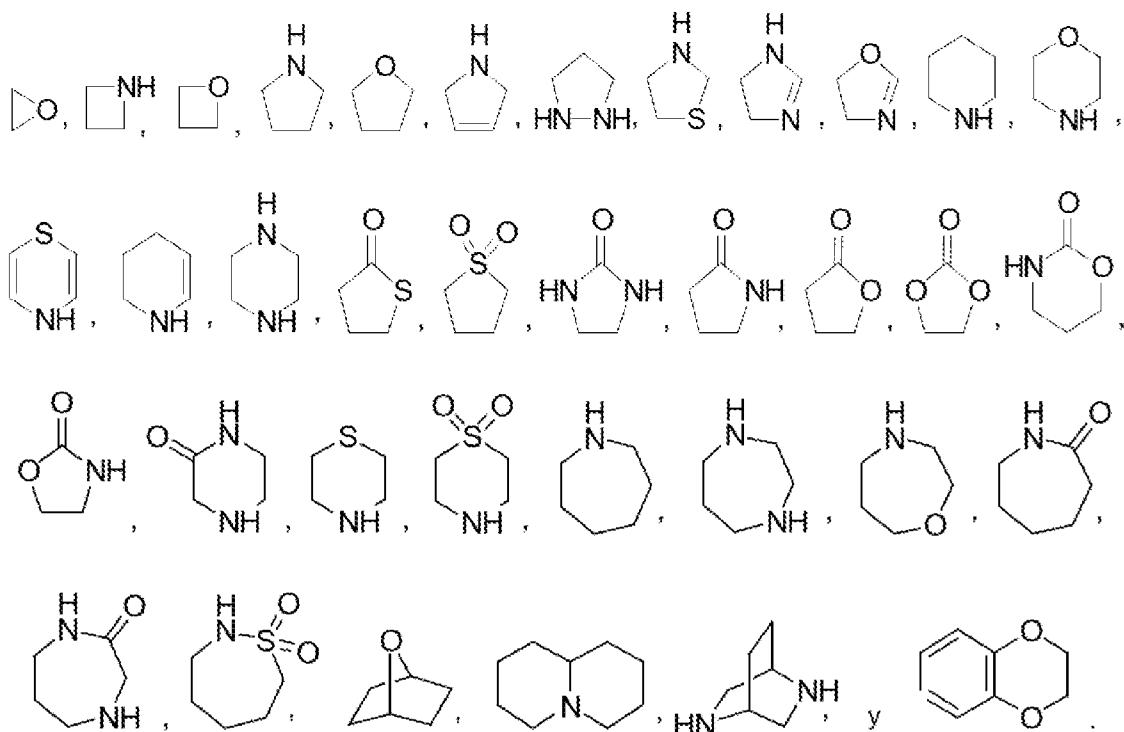
Como se usa aquí, el término "alquenilo" significa una cadena de átomos de carbono, que está opcionalmente ramificada, y contiene de 2 a 20 átomos de carbono, y también incluye al menos un doble enlace carbono-carbono (es decir, C=C). Se entenderá que, en ciertas modalidades, el alquenilo puede ser ventajosamente de longitud limitada, incluyendo C₂-C₁₂, C₂-C₉, C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄. Ilustrativamente, tales grupos alquenilo de longitud particularmente limitada, que incluyen C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄, pueden denominarse alquenilo inferior. El alquenilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Los grupos alquenilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etenilo, 1-65 propenilo, 2-propenilo, 1-, 2- o 3-butenilo, y similares.

Como se usa aquí, el término "alquinilo" significa una cadena de átomos de carbono, que está opcionalmente ramificada, y contiene de 2 a 20 átomos de carbono, y también incluye al menos un triple enlace carbono-carbono (es decir, C=C). Se entenderá que, en ciertas modalidades, el alquinilo puede ser cada uno de forma ventajosamente de longitud limitada, incluyendo C₂-C₁₂, C₂-C₉, C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄. Ilustrativamente, tales grupos alquinilo de longitud particularmente limitada, que incluyen C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄, pueden denominarse alquinilo inferior. El alquenilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Los grupos alquenilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-, 2- o 3-butinilo, y similares.

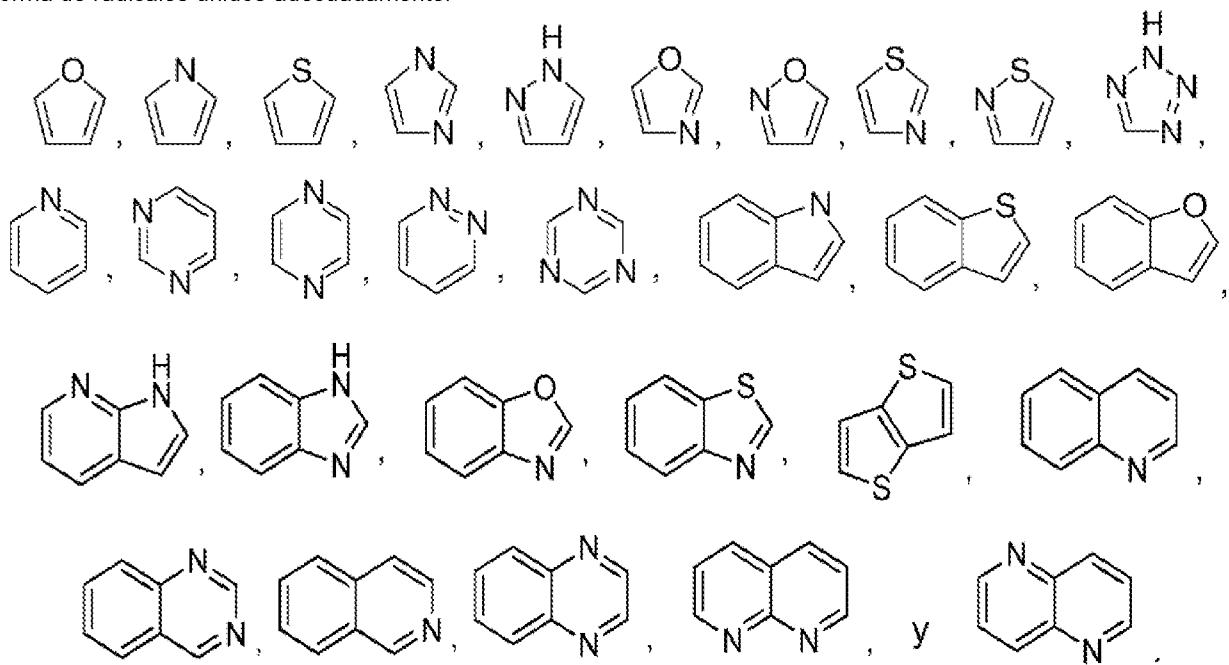
- 5 Como se usa aquí, el término "arilo" se refiere a un grupo monocíclico todo de carbono o policíclico de anillo fusionado de 6 a 12 átomos de carbono que tiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que, en ciertas modalidades, el arilo puede ser ventajosamente de tamaño limitado tal como el arilo C₆-C₁₀. Los grupos arilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilenilo y antracenilo. El grupo arilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí.
- 10 Como se usa aquí, el término "cicloalquilo" se refiere a un anillo monocíclico todo de carbono de 3 a 15 miembros, que incluye un anillo bicíclico fusionado de 5 miembros/6 miembros o 6 miembros/6 miembros todo de carbono, o un grupo de anillo multicíclico fusionado (un sistema de anillo "fusionado" significa que cada anillo en el sistema comparte un par adyacente de átomos de carbono con el otro anillo en el sistema), donde uno o más de los anillos pueden contener uno o más dobles enlaces pero el cicloalquilo no contiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que, en ciertas modalidades, el cicloalquilo puede ser ventajosamente de tamaño limitado tal como C₃-C₁₃, C₃-C₉, C₃-C₆ y C₄-C₆. El cicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Los grupos cicloalquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, adamantilo, norbornilo, norbornenilo, 9H-fluoren-9-ilo, y similares. Los ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo mostrados en representaciones gráficas incluyen las siguientes entidades, en forma de radicales unidos adecuadamente:



- 30 Como se usa aquí, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo de anillo monocíclico o fusionado que tiene en el(s) anillo(s) de 3 a 12 átomos en el anillo, en el que al menos un átomo del anillo es un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, los átomos del anillo restantes que son átomos de carbono. El heterocicloalquilo puede contener opcionalmente 1, 2, 3 o 4 heteroátomos. El heterocicloalquilo también puede tener uno o más dobles enlaces, que incluyen los dobles enlaces a nitrógeno (por ejemplo, C=N o N=N) pero no contiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas modalidades, el heterocicloalquilo puede ser ventajosamente de tamaño limitado tal como heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros y similares. El heterocicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Los grupos heterocicloalquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, oxiranilo, tianarilo, azetidinilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, pirrolidinilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, 1,4-dioxanilo, morfolinilo, 1,4-ditianilo, piperazinilo, oxepanilo, 3,4-dihidro-2H-piranilo, 5,6-dihidro-2H-piranilo, 2H-piranilo, 1,2,3,4-tetrahidropiridinilo y similares. Los ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo mostrados en representaciones gráficas incluyen las siguientes entidades, en forma de radicales unidos adecuadamente:



Como se usa aquí, el término "heteroarilo" se refiere a un grupo de anillo monocíclico o fusionado de 5 a 12 átomos en el anillo que contiene uno, dos, tres o cuatro heteroátomos en el anillo seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, los átomos del anillo restantes que son átomos de carbono, y que también tienen un sistema de electrón pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas modalidades, el heteroarilo puede ser ventajosamente de tamaño limitado tal como heteroarilo de 3 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 7 miembros, y similares. El heteroarilo puede estar no sustituido o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas modalidades proporcionadas aquí. Los grupos heteroarilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, furanilo, tiofeno, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirimidinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, purinilo, tetrazolilo, triazinilo, pirazinilo, tetrazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, tienilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzisoxazolilo, benzotiazolilo y carbazolilo, y similares. Ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo mostrados en representaciones gráficas, incluyen las siguientes entidades, en forma de radicales unidos adecuadamente:



Como se usa aquí, "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere a un grupo -OH.

5 Como se usa aquí, "alcoxi" se refiere tanto a un grupo -O-(alquilo) como a un grupo -O-(cicloalquilo no sustituido). Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, ciclopropoxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi y similares.

10 Como se usa aquí, "ariloxi" se refiere a un grupo -O-ariilo u -O-heteroarilo. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, fenoxi, piridiniloxi, furaniloxi, tieniloxi, pirimidiniloxi, piraziniloxi y similares.

10 Como se usa aquí, "mercapto" se refiere a un grupo -SH.

15 Como se usa aquí, "alquiltio" se refiere a un grupo -S-(alquilo) o -S-(cicloalquilo no sustituido). Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio, ciclopropiltio, ciclobutiltio, ciclopentiltio, ciclohexiltio y similares.

20 Como se usa aquí, "ariltio" se refiere a un grupo -S-ariilo o -S-heteroarilo. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, feniltio, piridiniltio, furaniltio, tieniltio, pirimidiniltio y similares.

25 Como se usa aquí, "halo" o "halógeno" se refiere a fluoro, cloro, bromo o yodo.

Como se usa aquí, "ciano" se refiere a un grupo -CN.

25 El término "oxo" representa un oxígeno carbonílico. Por ejemplo, un ciclopentilo sustituido con oxo es ciclopantanona.

30 Como se usa aquí, "enlace" se refiere a un enlace covalente.

30 El término "sustituido" significa que el grupo o radical especificado lleva uno o más sustituyentes. El término "no sustituido" significa que el grupo especificado no tiene sustituyentes. Cuando el término "sustituido" se usa para describir un sistema estructural, la sustitución debe ocurrir en cualquier posición permitida por la valencia en el sistema. En algunas modalidades, "sustituido" significa que el grupo o radical especificado lleva uno, dos o tres sustituyentes. En otras modalidades, "sustituido" significa que el grupo o radical especificado lleva uno o dos sustituyentes. En otras modalidades más, "sustituido" significa que el grupo o radical especificado lleva un sustituyente.

40 Como se usa aquí, "opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia que se describe posteriormente puede, pero no necesariamente, ocurrir, y que la descripción incluye casos en los que ocurre el evento o circunstancia y casos en los que no ocurre. Por ejemplo, "en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono o bicíclico es independientemente opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆" significa que un alquilo puede estar presente en cualquiera de los alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, o heteroarilo mono o bicíclico por reemplazo de un átomo de hidrógeno para cada grupo alquilo, y la descripción incluye situaciones en donde el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono o bicíclico está sustituido con un grupo alquilo y situaciones en donde el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono o bicíclico no está sustituido con el grupo alquilo.

45 50 Como se usa aquí, "independientemente" significa que el evento o circunstancia posteriormente descrito debe leerse por sí mismo en relación con otros eventos o circunstancias similares. Por ejemplo, en una circunstancia en la que varios grupos de hidrógeno equivalentes están opcionalmente sustituidos por otro grupo descrito en la circunstancia, el uso de "independientemente opcionalmente" significa que cada instancia de un átomo de hidrógeno en el grupo puede estar sustituida por otro grupo, donde los grupos que reemplazan cada uno de los átomos de hidrógeno puede ser igual o diferente. O, por ejemplo, cuando existen múltiples grupos, todos los cuales pueden seleccionarse de un conjunto de posibilidades, el uso de "independientemente" significa que cada uno de los grupos puede seleccionarse del conjunto de posibilidades por separado de cualquier otro grupo, y los grupos seleccionados en la circunstancia puede ser igual o diferente.

55 60 Como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que contrarrestan los iones que pueden usarse en productos farmacéuticos. Véase, en general, S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son aquellas que son farmacológicamente efectivas y adecuadas para el contacto con los tejidos de sujetos sin toxicidad, irritación o respuesta alérgica indebida. Un compuesto descrito aquí puede poseer un grupo suficientemente ácido, un grupo suficientemente básico, ambos tipos de grupos funcionales, o más de uno de cada tipo, y en consecuencia reaccionar con una serie de bases inorgánicas u orgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal

farmacéuticamente aceptable. Dichas sales incluyen:

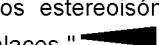
- 5 (1) sales de adición ácida, que pueden obtenerse por reacción de la base libre del compuesto original con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico y similares, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido málico (D) o (L), ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico y similares; o
 10 (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo o un ion de aluminio; o coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trimetamina, N-metilglucamina y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas por los expertos en la técnica, y cualquier sal farmacéuticamente aceptable de este tipo puede contemplarse en relación con las modalidades descritas aquí. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, pirosulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrógeno-fosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butino-1,4-dioatos, hexine1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, metilsulfonatos, propilsulfonates, besilatos, xilenosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ-hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos y mandelatos. Las listas de otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985.

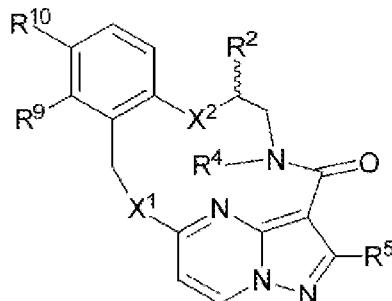
25 Para un compuesto de Fórmula I que contiene un nitrógeno básico, se puede preparar una sal farmacéuticamente aceptable por cualquier método adecuado disponible en la técnica, por ejemplo, el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido fenilacético, ácido propiónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido isetiónico, ácido succínico, ácido valérico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido láurico, un ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxiácido, tal como ácido mandélico, ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático, tal como ácido benzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido naftoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido laurilsulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido etanosulfónico, o cualquier mezcla compatible de ácidos tal como los que se dan como ejemplos aquí, y cualquier otro ácido y mezcla de los mismos que se consideren equivalentes o sustitutos aceptables en vista del nivel ordinario de habilidad en esta tecnología.

40 La descripción, no como parte de la invención, también se refiere a profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I, y a métodos de tratamiento que emplean dichos profármacos farmacéuticamente aceptables. El término "profármaco" significa un precursor de un compuesto designado que, después de la administración a un sujeto, produce el compuesto *in vivo* a través de un proceso químico o fisiológico tal como solvolisis o escisión enzimática, o en condiciones fisiológicas (por ejemplo, un profármaco al ser llevado a pH fisiológico se convierte en el compuesto de Fórmula I). Un "profármaco farmacéuticamente aceptable" es un profármaco que no es tóxico, es biológicamente tolerable y de otro modo biológicamente adecuado para la administración al sujeto. Los procedimientos ilustrativos para la selección y preparación de derivados de profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

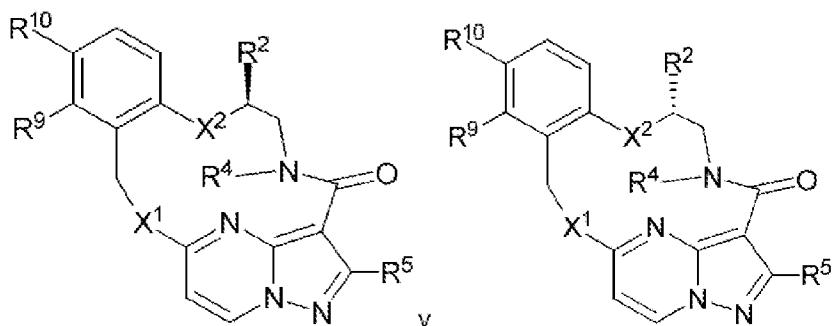
50 La presente descripción, no como parte de la invención, también se refiere a metabolitos farmacéuticamente activos de compuestos de Fórmula I, y usos de tales metabolitos en los métodos de la descripción. Un "metabolito farmacéuticamente activo" significa un producto farmacológicamente activo del metabolismo en el cuerpo de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los profármacos y los metabolitos activos de un compuesto pueden determinarse usando técnicas de rutina conocidas o disponibles en la técnica. Véase, por ejemplo, Bertolini et al., *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2011-2016; Shan et al., *J. Pharm. Sci.* 1997, 86 (7), 765-767; Bagshawe, *Drug Dev. Res.* 1995, 34, 220-230; Bodor, *Adv. Drug Res.* 1984, 13, 255-331; Bundgaard, 55 Design of Prodrugs (Elsevier Press, 1985); and Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991).

60 Cualquier fórmula representada aquí pretende representar un compuesto de esa fórmula estructural, así como ciertas variaciones o formas. Por ejemplo, una fórmula dada aquí pretende incluir una forma racémica, o uno o más isómeros enantioméricos, diastereoméricos o geométricos, o una mezcla de los mismos. Además, cualquier fórmula dada aquí pretende referirse también a un hidrato, solvato o polimorfo de dicho compuesto, o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, se apreciará que los compuestos representados por una fórmula estructural que contiene el símbolo "  " incluyen ambos estereoisómeros para el átomo de carbono al que está unido el símbolo "  ", específicamente los enlaces "  " y "  " están abarcados por el significado de "  ". Por ejemplo, en algunas modalidades ejemplares, ciertos compuestos proporcionados aquí pueden describirse mediante

la fórmula



- 5 cuya fórmula se entenderá que abarca compuestos que tienen ambas configuraciones estereoquímicas en el átomo de carbono relevante. Específicamente, en este ejemplo, las configuraciones pueden describirse mediante las fórmulas

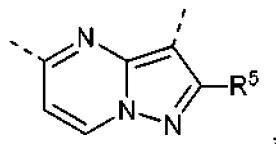


- 10 Cualquier fórmula dada aquí también pretende representar formas no marcadas así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas aquí, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de 15 la descripción incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, fluoro, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , y ^{125}I , respectivamente. Dichos compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (preferiblemente con ^{14}C), estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), técnicas de detección o formación de imágenes [tal como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT)] que incluye ensayos de distribución de 20 tejido en fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. Además, la sustitución con isótopos más pesados tal como el deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una vida media *in vivo* aumentada o requisitos de dosificación reducidos. Los compuestos marcados isotópicamente de esta descripción y los profármacos de los mismos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones 25 descritas a continuación sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo marcado no isotópicamente.

- Cualquier disustituyente al que se hace referencia aquí pretende abarcar las diversas posibilidades de unión cuando se permiten más de una de tales posibilidades. Por ejemplo, la referencia al disustituyente $-A-B-$, donde $A \neq B$, se refiere aquí a dicho disustituyente con A unido a un primer miembro sustituido y B unido a un segundo miembro sustituido, y también se refiere a dicho disustituyente con A unido al segundo miembro sustituido y B unido al primer miembro sustituido. El uso de "—" en relación con las diversas fórmulas químicas proporcionadas aquí para describir las diversas modalidades se refiere a un enlace covalente (también denominado punto de unión) del grupo al que "—" para el resto de la molécula.

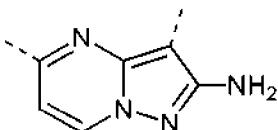
35 Modalidades representativas

Los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula

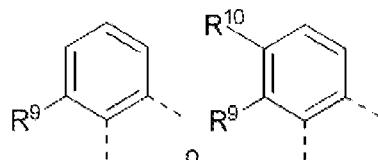


en donde R^5 es $-NR^6R^7$; y R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆; en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆ está independientemente opcionalmente sustituido con fluoro, cloro, bromo, -OH, CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, NH(alquilo C₁-C₆), N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₇, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 a 7 miembros, -CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂.

5 10 En algunas modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula

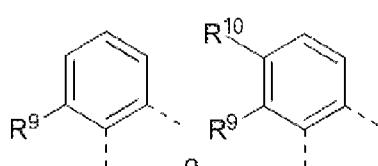


15 En aún otras modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula



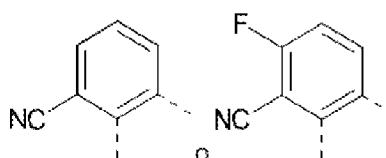
en donde R^9 es H, fluoro, cloro, bromo, -CN, -CF₃, CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) y C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂; y R^{10} es H, fluoro, cloro o bromo.

20 25 En todavía otras modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula

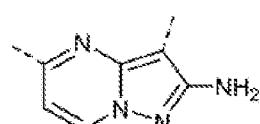


30 25 en donde R^9 es fluoro, cloro, bromo, -CN, -CF₃, -CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) y C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂; y R^{10} es fluoro, cloro o bromo.

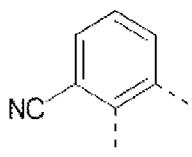
30 En aún otras modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula



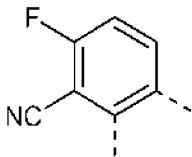
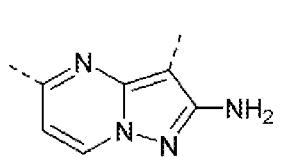
En todavía otras modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula



35 y un radical de la fórmula



En aún otras modalidades, los compuestos descritos aquí comprenden un radical de la fórmula



y un radical de la fórmula

5

donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆ está independientemente opcionalmente sustituido con uno o más radicales seleccionados del grupo que consiste en -F, -OH, -O-alkilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alkilo C₁-C₆) y N(alkilo C₁-C₆)₂. En algunas modalidades, R² es metilo. En algunas modalidades, R² es metilo y R³ es H.

5 En algunas modalidades, R⁴ es H. En algunas modalidades, R⁴ es alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros es independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, OH, -CN, -O-alkilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alkilo C₁-C₆), -N(alkilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alkilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alkilo C₁-C₆), -C(O)N(alkilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo monocíclico de 5 a 7 miembros.

10 10 En algunas modalidades, R⁸ es alquilo C₁-C₆, en donde cada átomo de hidrógeno está independientemente opcionalmente sustituido por fluoro, cloro, bromo, -OH, CN, O-alkilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alkilo C₁-C₆), -N(alkilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₇, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 a 7 miembros, -CO₂H, -C(O)O-alkilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alkilo C₁-C₆), o -C(O)N(alkilo C₁-C₆)₂.

15 15 En otras modalidades, el compuesto de Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en (7S)-3-amino-12-cloro-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecen-4(5H)-one, (7S)-3-amino-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo, (7S)-3-amino-14-ethyl-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo, (7S)-3-amino-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-4-oxo-14-(propan-2-il)-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriaza-cicotridecina-12-carbonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 25 Los siguientes representan modalidades ilustrativas de compuestos de Fórmula I:

Cpd	Estructura	Nombre
1		(7S)-3-amino-12-cloro-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecen-4(5H)-one
5		(7S)-3-amino-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo
6		(7S)-3-amino-14-ethyl-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo
7		(7S)-3-amino-14-(ciclopropilmetil)-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo

(continuación)

Cpd	Estructura	Nombre
8		(7S)-3-amino-11-fluoro-7-metil-4-oxo-14-(propan-2-il)-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo
9		(7S)-3-amino-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo
10		(7S)-3-amino-14-(² H ₅)ethyl-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo
11		(7R)-3-amino-14-ethyl-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo

Los expertos en la técnica reconocerán que las especies enumeradas o ilustradas aquí no son exhaustivas, y que también se pueden seleccionar especies adicionales dentro del alcance de estos términos definidos.

5

Composiciones farmacéuticas

Para fines de tratamiento, las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos descritos aquí pueden comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Un excipiente farmacéuticamente aceptable es una sustancia que no es tóxica y que, por lo demás, es biológicamente adecuada para la administración a un sujeto. Dichos excipientes facilitan la administración de los compuestos descritos aquí y son compatibles con el ingrediente activo. Los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen estabilizadores, lubricantes, agentes tensoactivos, diluyentes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes, agentes de carga, emulsionantes o agentes modificadores del sabor. En modalidades preferidas, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la descripción son composiciones estériles. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse usando técnicas de formación de compuesto conocidas o que estén disponibles para los expertos en la técnica.

Las composiciones estériles también se contemplan en la descripción, que incluyen las composiciones que están de acuerdo con las reglamentaciones nacionales y locales que rigen tales composiciones.

Las composiciones farmacéuticas y los compuestos descritos aquí pueden formularse como soluciones, emulsiones, suspensiones o dispersiones en solventes o portadores farmacéuticos adecuados, o como píldoras, tabletas, pastillas, supositorios, bolsitas, grageas, gránulos, polvos, polvos para reconstitución, o cápsulas junto con portadores sólidos de acuerdo con métodos convencionales conocidos en la técnica para la preparación de diversas formas de dosificación. Las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden administrarse por una vía de suministro adecuada, tal como vía oral, parenteral, rectal, nasal, tópica u ocular, o por inhalación. Preferiblemente, las composiciones se formulan para administración intravenosa u oral.

Para la administración oral, los compuestos de la descripción se puede proporcionar en forma sólida, tal como una tableta o cápsula, o como una solución, emulsión o suspensión. Para preparar las composiciones orales, los compuestos de la descripción pueden formularse para producir una dosificación de, por ejemplo, de entre 0,1 mg a 1

g al día, o de entre 1 mg a 50 mg al día, o de entre 50 a 250 mg al día, o de entre 250 mg a 1 g al día. Las tabletas orales pueden incluir el(s) ingrediente(s) activo(s) mezclado(s) con excipientes farmacéuticamente aceptables compatibles, tales como diluyentes, agentes desintegrantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Los rellenos inertes adecuados

5 incluyen carbonato de sodio y calcio, fosfato de sodio y calcio, lactosa, almidón, azúcar, glucosa, metilcelulosa, esteарато de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Los excipientes orales líquidos ejemplares incluyen etanol, glicerol, agua y similares. El almidón, polivinilpirrolidona (PVP), almidón glicolato de sodio, celulosa microcrystalina y ácido algínico son agentes desintegrantes ejemplares. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina. El agente lubricante, si está presente, puede ser esteарато de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, las 10 tabletas pueden recubrirse con un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal, o pueden recubrirse con un recubrimiento entérico.

Las cápsulas para administración oral incluyen cápsulas de gelatina dura y blanda. Para preparar cápsulas de gelatina dura, el o los ingredientes activos se pueden mezclar con un diluyente sólido, semisólido o líquido. Las 15 cápsulas de gelatina blanda se pueden preparar mezclando el ingrediente activo con agua, un aceite, tal como aceite de maní o aceite de oliva, parafina líquida, una mezcla de mono y diglicéridos de ácidos grasos de cadena corta, polietilenglicol 400 o propilenglicol.

20 Los líquidos para administración oral pueden estar en forma de suspensiones, soluciones, emulsiones o jarabes, o pueden liofilizarse o presentarse como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas composiciones líquidas pueden contener opcionalmente: excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, sorbitol, metilcelulosa, alginato de sodio, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de esteарато de aluminio y similares); vehículos no acuosos, por ejemplo, aceite (por ejemplo, aceite de almendras o aceite de coco fraccionado), propilenglicol, alcohol etílico o agua; conservantes (por ejemplo, metil o propil p-hidroxibenzoato o ácido súrbico); agentes humectantes tales como lecitina; y, si se desea, agentes saborizantes o colorantes.

25 Para uso parenteral, incluyendo rutas intravenosas, intramusculares, intraperitoneales, intranasales o subcutáneas, los agentes de la descripción pueden proporcionarse en soluciones o suspensiones acuosas estériles, tamponadas a un pH e isotonicidad apropiados o en aceite parenteralmente aceptable. Los vehículos acuosos adecuados incluyen solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico. Dichas formas se pueden presentar en forma de dosis 30 unitarias, tal como ampollas o dispositivos de inyección desechables, en formas de dosis múltiples, tal como viales de los que se puede extraer la dosis adecuada, o en forma sólida o preconcentrado que se puede usar para preparar una formulación inyectable. Las dosis de infusión ilustrativas varían de aproximadamente 1 a 1000 µg/kg/minuto de 35 agente mezclado con un portador farmacéutico durante un período que varía de varios minutos a varios días.

40 Para la administración nasal, inhalada u oral, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse usando, por ejemplo, una formulación de pulverización que también contiene un portador adecuado. Las 45 composiciones de la invención pueden formularse para administración rectal como un supositorio.

Compuestos para uso en métodos de tratamiento

50 Como se usa aquí, los términos "tratar" o "tratamiento" abarcan tanto el tratamiento "preventivo" como el "curativo". El tratamiento "preventivo" está destinado a indicar un aplazamiento del desarrollo de una enfermedad, un síntoma de una enfermedad o condición médica, la supresión de los síntomas que pueden aparecer o la reducción del riesgo de desarrollar o la recurrencia de una enfermedad o síntoma. El tratamiento "curativo" incluye reducir la gravedad o suprimir el empeoramiento de una enfermedad, síntoma o condición existente. Por lo tanto, el tratamiento incluye mejorar o prevenir el empeoramiento de los síntomas de la enfermedad existente, prevenir la aparición de síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas sistémicas subyacentes de los síntomas, inhibir el trastorno o la enfermedad, por ejemplo, detener el desarrollo del trastorno o enfermedad, aliviar el trastorno o enfermedad, que causa la regresión del trastorno o enfermedad, alivia una condición causada por la enfermedad o trastorno, o detiene los síntomas de la enfermedad o trastorno.

55 El término "sujeto" se refiere a un paciente mamífero que necesita dicho tratamiento, tal como un ser humano. Como se usa aquí, "cáncer" incluye cualquier cáncer conocido en la técnica, particularmente aquellos cánceres en los que SRC y MET, y/o CSF1R se han implicado en la enfermedad. Los ejemplos de tipos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, carcinomas, sarcomas, linfomas, enfermedad de Hodgkin, melanomas, mesoteliomas, linfoma de Burkitt, carcinomas nasofaringeos, leucemias y mielomas. Los ejemplos de cánceres específicos incluyen, pero no se limitan a, cáncer oral, cáncer de tiroides, cáncer endocrino, cáncer de piel, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de laringe, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, cáncer de ovario, cáncer cervical,

cáncer uterino, cáncer de mama, cáncer testicular, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer rectal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello, y cánceres de pulmón, tal como cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, y similares.

- 5 En un aspecto, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la descripción se dirigen específicamente a SRC y MET, y/o CSF1R. Por lo tanto, estos compuestos y composiciones farmacéuticas pueden usarse para prevenir, revertir, ralentizar o inhibir la actividad de uno o más de SRC y MET, y/o CSF1R. En algunas modalidades, los compuestos de fórmula 1 para uso en los métodos de tratamiento del cáncer que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula 1 que inhibe uno o más de SRC y MET, y/o CSF1R
- 10 se describen aquí. En otras modalidades, los compuestos de fórmula 1 para uso en los métodos para tratar el cáncer que comprenden a. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se describe aquí que inhibe uno o más de SRC y MET, y/o CSF1R se describen. En otras modalidades, se describen compuestos de fórmula 1 para uso en los métodos para tratar el cáncer que comprenden a. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se describe aquí. En otras modalidades, el cáncer es cáncer
- 15 gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

En algunas modalidades, la descripción se dirige a un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

En algunas modalidades, la descripción se dirige al uso de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

En algunas modalidades, la descripción se dirige al uso de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un paciente. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

En algunas modalidades, la descripción se dirige a una composición que comprende un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad terapéuticamente efectiva, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, glioblastoma o cáncer de cabeza y cuello.

40 En los métodos inhibitorios de la descripción, una "cantidad efectiva" significa una cantidad suficiente para inhibir el objetivo. La medición de dicha modulación objetivo puede realizarse mediante métodos analíticos de rutina como los que se describen a continuación. Dicha modulación es útil en una variedad de entornos, que incluyen los ensayos *in vitro*. En tales métodos, la célula puede ser una célula cancerosa con señalización anormal debido a la regulación positiva, mutación, actividad aberrante y/o cambios en SRC y MET, y/o CSF1R.

45 En los métodos de tratamiento, una "cantidad efectiva" significa una cantidad o dosis suficiente para lograr generalmente el beneficio terapéutico deseado en sujetos que necesitan dicho tratamiento. Las cantidades o dosis efectivas de los compuestos de la descripción pueden determinarse mediante métodos de rutina, tales como modelado, escalado de dosis o ensayos clínicos, teniendo en cuenta factores de rutina, por ejemplo, el modo o vía de administración o suministro de fármacos, la farmacocinética del agente, la gravedad y el curso de la infección, el estado de salud del sujeto, su condición y peso, y el juicio del médico tratante. Una dosis ejemplar está en el intervalo de entre 0,1 mg a 1 g al día, o de entre 1 mg a 50 mg al día, o de entre 50 a 250 mg al día, o de entre 250 mg a 1 g al día. La dosificación total puede administrarse en unidades de dosificación individuales o divididas (por ejemplo, BID, TID, QID).

55 Una vez que se ha producido la mejoría de la enfermedad del paciente, la dosis puede ajustarse para tratamiento preventivo o de mantenimiento. Por ejemplo, la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse en función de los síntomas, a un nivel en el que se mantenga el efecto terapéutico o profiláctico deseado. Por supuesto, si los síntomas se han aliviado a un nivel apropiado, el tratamiento puede cesar. Sin embargo, los pacientes pueden requerir un tratamiento intermitente a largo plazo ante cualquier recurrencia de los síntomas. Los pacientes también pueden requerir tratamiento crónico a largo plazo.

Combinaciones de fármacos

65 Los compuestos de la invención descritos aquí pueden usarse en composiciones farmacéuticas o métodos en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales en el tratamiento de las enfermedades y trastornos

- descritos aquí. Otros ingredientes activos adicionales incluyen otros terapéuticos o agentes que mitigan los efectos adversos de las terapias para los objetivos de enfermedad previstos. Dichas combinaciones pueden servir para aumentar la eficacia, mejorar otros síntomas de la enfermedad, disminuir uno o más efectos secundarios o disminuir la dosis requerida de un compuesto de la invención. Los ingredientes activos adicionales pueden administrarse en una composición farmacéutica separada de un compuesto de la presente descripción o pueden incluirse con un compuesto de la presente descripción en una única composición farmacéutica. Los ingredientes activos adicionales se pueden administrar simultáneamente con, antes o después de la administración de un compuesto de la presente descripción.
- 5 Los agentes de combinación que incluyen ingredientes activos adicionales son aquellos que se sabe o se descubre que son efectivos en el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos aquí, que incluyen los activos contra otro objetivo asociado con la enfermedad. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la descripción, así como los métodos de tratamiento, pueden comprender además otros fármacos o productos farmacéuticos, por ejemplo, otros agentes activos útiles para tratar o paliativos para las enfermedades objetivo o síntomas o 10 condiciones relacionadas. Dichos agentes adicionales incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de quinasas, tales como inhibidores de EGFR (por ejemplo, erlotinib, gefitinib), inhibidores de Raf (por ejemplo, vemurafenib), inhibidores de VEGFR (por ejemplo, sunitinib), inhibidores de ALK (por ejemplo, crizotinib) agentes de quimioterapia estándar tales como agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, inhibidores de topoisomerasa, fármacos de platino, inhibidores mitóticos, anticuerpos, terapias hormonales o corticosteroides. Para indicaciones de 15 dolor, los agentes combinados adecuados incluyen antiinflamatorios tal como los NSAID. Las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden comprender adicionalmente uno o más de dichos agentes activos, y los métodos de tratamiento pueden comprender adicionalmente administrar una cantidad efectiva de uno o más de dichos agentes activos.
- 20 25 En algunas modalidades, la descripción se dirige a un compuesto de fórmula I para uso en un método para tratar el cáncer en un paciente que comprende, a. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R; y b. administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. En algunas modalidades, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el agente anticancerígeno 30 adicional es un anticuerpo de EGFR. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de pulmón o cáncer de cabeza y cuello.
- 35 40 En algunas modalidades, la descripción se dirige a un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. En algunas modalidades, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de pulmón o cáncer de cabeza y cuello.
- 45 50 En algunas modalidades, la descripción se dirige al uso de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un paciente en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades de este aspecto, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de pulmón o cáncer de cabeza y cuello. En algunas modalidades, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.
- 55 60 En algunas modalidades, la descripción se dirige a una composición que comprende un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad terapéuticamente efectiva, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de Fórmula I. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de pulmón o cáncer de cabeza y cuello. En algunas modalidades, el compuesto se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anticancerígeno adicional. En algunas modalidades, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.
- 65 En algunas modalidades, la descripción se refiere a una composición sinérgica de un compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R, y un inhibidor de EGFR, donde los dos componentes entran en contacto entre sí en un locus. El compuesto que inhibe SRC y MET, y/o CSF1R es de la Fórmula I. En algunas modalidades, el al menos un agente anticancerígeno adicional es un inhibidor de EGFR, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el agente anticancerígeno adicional es un anticuerpo de EGFR.

Ejemplos**Síntesis química**

5 Las entidades químicas ejemplares útiles en los métodos de la descripción se describirán ahora por referencia a esquemas sintéticos ilustrativos para su preparación general a continuación y los ejemplos específicos que siguen. Los artesanos reconocerán que, para obtener los diversos compuestos aquí, los materiales de partida pueden seleccionarse adecuadamente para que los sustituyentes deseados en última instancia se lleven a través del esquema de reacción con o sin protección según sea apropiado para producir el producto deseado. Alternativamente, puede ser necesario o deseable emplear, en lugar del sustituyente finalmente deseado, un grupo adecuado que pueda llevarse a través del esquema de reacción y reemplazarse según sea apropiado con el sustituyente deseado. Además, un experto en la técnica reconocerá que las transformaciones que se muestran en los esquemas a continuación pueden realizarse en cualquier orden que sea compatible con la funcionalidad de los grupos pendientes particulares.

Abreviaturas

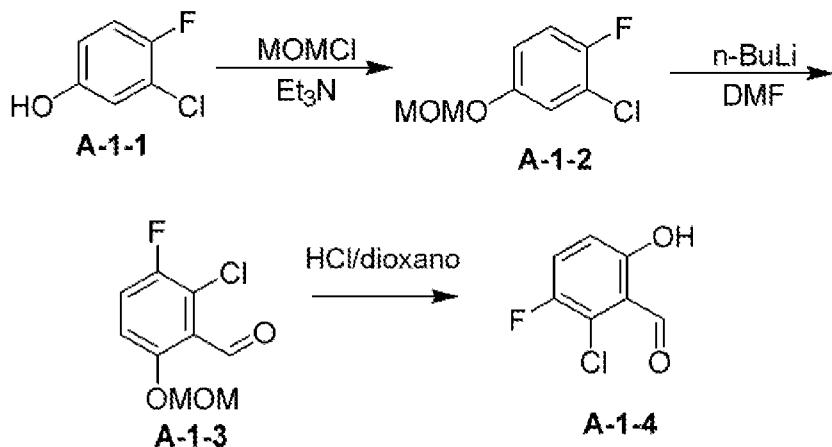
20 Los ejemplos descritos aquí utilizan materiales, que incluyen, pero no se limitan a, los descritos por las siguientes abreviaturas conocidas por los expertos en la técnica:

g	gramos
eq	Equivalentes
mmol	Milimoles
ml	Mililitros
EtOAc	Acetato de etilo
MHz	Megahertz
ppm	Partes por millón
δ	Desplazamiento químico
s	Singlete
d	doblete
t	Triplete
q	cuartete
quin	Quinteto
br	Amplio
m	Multiplete
Hz	Hertz
THF	Tetrahidrofurano
°C	Grados Celsius
PE	Éter de petróleo
EA	Acetato de etilo
R _f	Factor de retardación
N	normal
J	Constante de acoplamiento
DMSO-d6	Sulfóxido de dimetilo deuterado
n-BuOH	n-butanol
DIEA	n,n-diisopropiletilamina
TMSCl	Cloruro de trimetilsililo
min	Minutos
hr	Horas
Me	Metilo
Et	Etilo
i-Pr	Isopropilo
TLC	Cromatografía de capa fina
M	Molar
Compd#	Número de compuesto
MS	Espectro de masa
m/z	Relación masa a carga
Ms	metanosulfonilo
FDPP	Pentafluorofenil difenilfosfinato
Boc	terc-butiloxicarbonilo
TFA	Ácido trifluoroacético
Tos	Toluenosulfonilo
DMAP	4-(dimetilamino)piridina

μM	Micromolar
ATP	Trifosfato de adenosina
IC_{50}	Concentración inhibidora máxima media
U/ml	Unidades de actividad por mililitro
KHMDS	bis(trimetilsilil)amida de potasio
DIAD	diisopropil azodicarboxilato
MeTHF	2-metiltetrahidrofurano
MOM	metoximetilo
DCM	Diclorometano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DPPA	difenil fosforil azida
DBU	1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina

Método general A**Preparación 2-cloro-3-fluoro-6-hidroxibenzaldehído (A-1-4)**

5



Paso 1. A una solución de A-1-1 (20,00 g, 136,47 mmol, 1,00 equivalente) e hidruro de sodio (6,55 g, 60% de pureza, 272,94 mmol, 2,00 equivalentes) en DMF (200,00 ml) se añadió MOMCl (21,97 g, 272,94 mmol, 20,73 ml, 2,00 equivalentes) a 0°C bajo N₂. La mezcla se agitó a 25°C durante 10 horas. La TLC (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) mostró que el material de partida se consumió por completo y se encontró una nueva mancha. La mezcla de reacción se templó con agua (150 ml), y luego se diluyó con agua (150 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar A-1-2 (20,00 g, 76,89% de rendimiento) como un aceite incoloro. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7,11 (dd, J=2,8, 6,0 Hz, 1H), 7,04 (t, J=8,8 Hz, 1H), 6,90 (td, J=3,2, 9,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H), 3,47 (s, 3H).

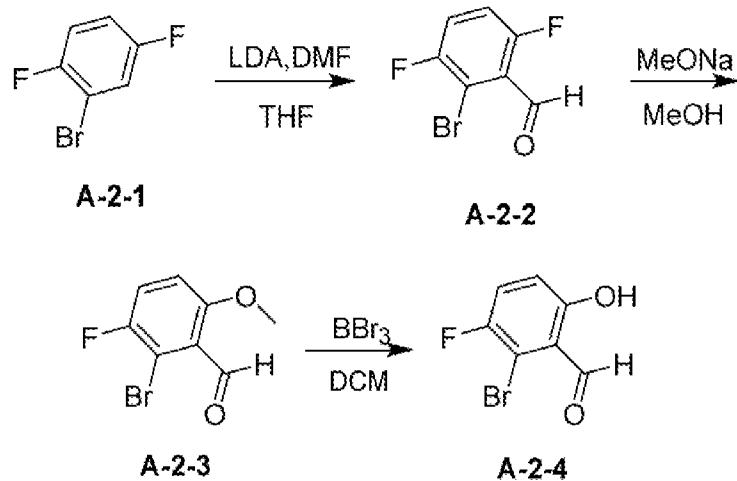
Paso 2. A una solución de A-1-2 (20,00 g, 104,93 mmol, 1,00 equivalente) en THF (250,00 ml) se le añadió n-BuLi (2,5 M, 125,92 ml, 3,00 equivalentes) a -65°C bajo N₂. La mezcla se agitó a -65°C durante 2 horas. La mezcla se templó con DMF (76,69 g, 1,05 mol, 80,73 ml, 10,00 equivalentes) y la mezcla se agitó a -65°C durante 15 minutos bajo N₂. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1) mostró que el material de partida se consumió por completo y se encontró una nueva mancha. La mezcla de reacción se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (150 ml*3). Luego se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/0 a 1/1) para dar A-1-3 (4,80 g, 20,93% de rendimiento) como un aceite incoloro. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 10,48 (s, 1H), 7,28 (t, J=8,8 Hz, 1H), 7,15 (dd, J=4,0, 9,2 Hz, 1H), 5,25 (s, 2H), 3,51 (s, 3H).

Paso 3. A una solución de A-1-3 (4,00 g, 18,3 mmol, 1,00 equivalente) en HCl/dioxano (40,0 ml) se agitó a 25°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (25,0 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (30,0 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar A-1-4 (2,50 g, 14,3 mmol, rendimiento = 78,3%) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 11,68 (s, 1H), 10,43 (s, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 1H), 6,91 (dd, J=4,0, 9,2 Hz, 1H).

35

Método general B

Preparación de 2-bromo-3-fluoro-6-hidroxibenzaldehído (A-2-4)



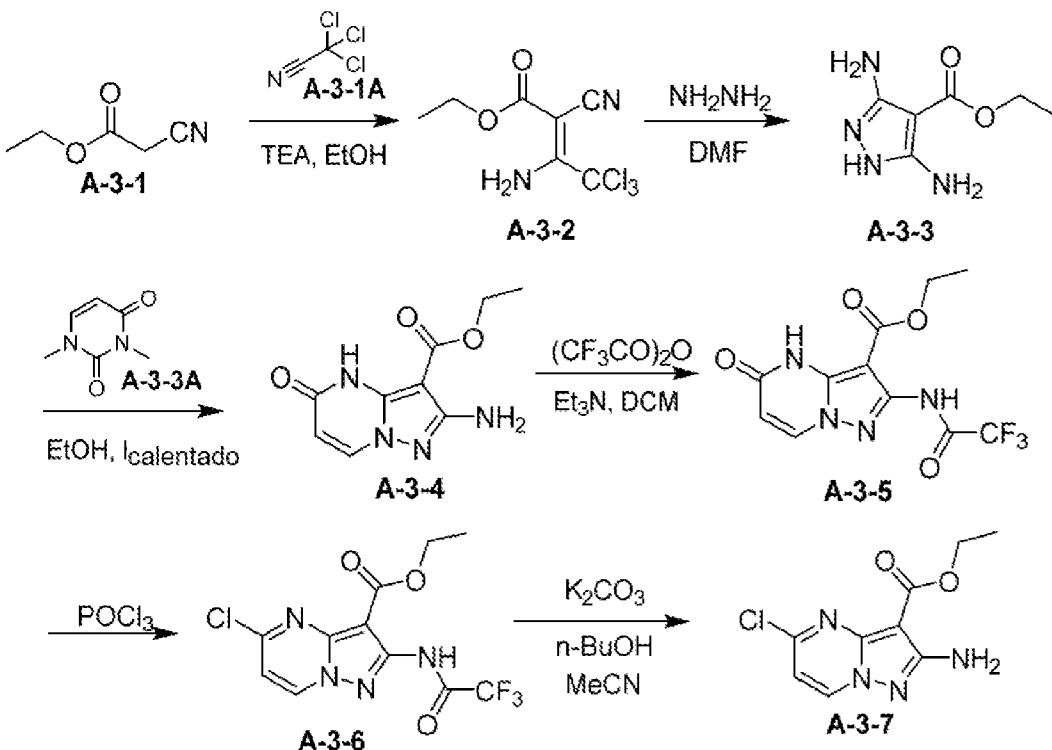
5 Paso 1. A una solución de A-2-1 (30,0 g, 155 mmol, 1 equivalente) en THF (300 ml) se le añadió LDA (2 M, 116 ml, 1,5 equivalentes) a -78°C y se agitó durante 1 hora, luego se añadió DMF (34,1 g, 466 mmol, 3 equivalentes) a -78°C y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se templó por adición de cloruro de amonio saturado (200 ml) a 0°C, luego se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (1,00 l). La capa orgánica se lavó con 10 salmuera (200 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna para dar A-2-2 (20,0 g, 90,5 mmol, rendimiento = 58,2%) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 10,34 (s, 1H), 7,37-7,34 (m, 1H), 7,17-7,34 (m, 1H).

15 Paso 2. Una solución de A-2-2 (20,0 g, 90,5 mmol, 1,00 equivalente) en THF (100 ml) y metanol (240 ml) se calentó a 60°C, luego una solución de metilato de sodio (4,3 M, 25,3 ml, 1,2 equivalentes) en metanol se añadió y se agitó a 60°C durante 12 horas. La mezcla de reacción se templó mediante la adición de agua (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (500 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar A-2-3 (13,5 g, 57,9 mmol, rendimiento = 64,0%) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 10,30 (s, 1H), 7,20 (dd, J =7,6, 9,2 Hz, 1H), 6,86 (dd, J =4,0, 9,2 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H).

Paso 3. A una solución de A-2-3 (13,0 g, 55,8 mmol, 1,00 equivalente) en DCM (150 ml) se le añadió BBr₃ (28,0 g, 112 mmol, 2,00 equivalentes) a -40°C gota a gota, luego la mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se templó mediante la adición de metanol (20,0 ml) y una solución saturada de bicarbonato de sodio (50,0 ml) a 0°C, luego se extrajo con acetato de etilo (300 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar A-2-4 (10,5 g, 43,2 mmol, rendimiento = 77,4%) como un sólido amarillo. ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 11,78 (s, 1H), 10,35 (s, 1H), 7,32 (dd, *J*=7,6, 9,2 Hz, 1H), 6,96 (dd, *J*=4,0, 9,2 Hz, 1H).

30 Método general C

Preparación de 2-amino-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-6-7)



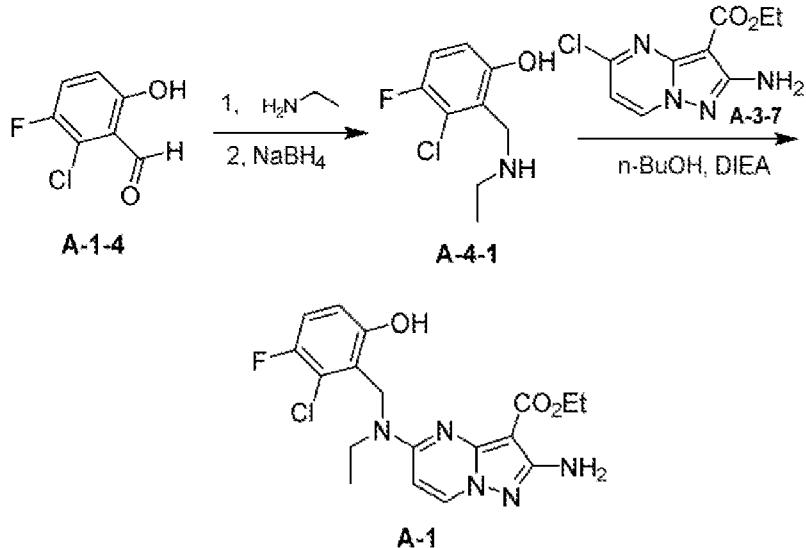
- 5 Paso 1. A una solución de A-3-1 (100 g, 884 mmol, 1,00 equivalente) y A-3-1A (230 g, 1,59 mol, 1,80 equivalentes) en etanol (1,50 l) se añadió TEA (4,47 g, 44,2 mmol, 0,05 equivalentes) a 0°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 12 horas. El solvente se eliminó para dar el producto crudo que se purificó por cromatografía en columna para dar A-3-2 (200 g, 738 mmol, rendimiento = 83,5%) como un aceite blanquecino. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 10,21 (br s, 1H), 6,95 (br s, 1H), 4,29 - 4,34 (m, 2H), 1,37 (t, J =7,2 Hz, 3H).
- 10 Paso 2. A una solución de etilo A-3-2 (100 g, 388 mmol, 1,00 equivalente) en DMF (500 ml) se le añadió hidraca (311 g, 3,11 mol, 50,0% de pureza, 8,00 equivalentes). La mezcla se agitó a 100°C durante 2 horas. Se eliminó el solvente y se añadió DCM (500 ml), la mezcla resultante se agitó durante 12 horas. El sólido se filtró y se lavó con DCM (200 ml) para dar A-3-3 (60,0 g, 317 mmol, rendimiento = 81,7%) como un sólido marrón. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 7,91 (s, 1H), 7,50 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,03 (q, J =7,2 Hz, 2H), 1,16 (t, J =7,2 Hz, 3H).
- 15 Paso 3. A una solución de etóxido de sodio recién preparado (0,50 M, 2,35 l, 4,00 equivalentes) en etanol (200 ml) se añadió A-3-3 (50,0 g, 294 mmol, 1,00 equivalente), luego se añadió A-3-3A (41,2 g, 294 mmol, 1,00 equivalente). La mezcla se agitó a 90°C durante 9 horas. Se filtró la torta filtrada y se lavó con etanol (100 ml) para dar el A-3-4 (25,0 g, 113 mmol, rendimiento = 38,3%) como un sólido marrón. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 7,71 (d, J =7,2 Hz, 1H), 5,57 - 5,46 (m, 3H), 4,15 (q, J =7,2 Hz, 2H), 1,25 (t, J =7,2 Hz, 3H).
- 20 Paso 4. A una solución de A-3-4 (18,0 g, 81,0 mmol, 1,00 equivalente) en DCM (300 ml) se le añadió trietilamina (20,5 g, 202 mmol, 2,50 equivalentes) a 0°C, luego se añadió anhídrido trifluoroacético (20,4 g, 97,2 mmol, 1,20 equivalentes). La mezcla se agitó a 25°C durante 12 horas. El sólido se recogió por filtración y se lavó con DCM (100 ml) para dar A-3-5 (18,0 g, 47,4 mmol, rendimiento = 58,5%) como un sólido amarillo. LCMS: EW6129-170-P1D (M+1: 319,1).
- 25 Paso 5. Una solución de A-3-5 (18,0 g, 56,6 mmol, 1,00 equivalente) en POCl_3 destilado fresco (180 ml) se agitó a 100°C durante 5 horas. La mezcla se vertió en agua con hielo (500 ml) a 0°C, se filtró y la torta del filtro se lavó con agua (200 ml) y luego se recogió para dar A-3-6 (15,0 g, 43,6 mmol, rendimiento = 77,1%) como un sólido negro marrón. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 11,93 (s, 1H), 9,31 (d, J =7,2 Hz, 1H), 7,47 (d, J =7,2 Hz, 1H), 4,28 (q, J =7,2 Hz, 2H), 1,28 (br t, J =7,2 Hz, 3H).
- 30 Paso 6. A una solución de A-3-6 (13,0 g, 38,6 mmol, 1,00 equivalente) en n-butanol (150 ml) y acetonitrilo (150 ml) se le añadió carbonato de potasio (10,7 g, 77,2 mmol, 2,00 equivalentes). La mezcla se agitó a 60°C durante 8 horas. La mezcla de reacción se templó mediante la adición de agua (200 ml) y se extrajo con diclorometano/metanol = 10/1 (500 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrido, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (condición básica) para dar el A-3-7 (4,8 g, 19,2 mmol, rendimiento =

49,6%) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8,23 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 6,74 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 5,44 (s, 2H), 4,37 (q, $J=7,2$ Hz, 2H), 1,37 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Método general D

5

Preparación de 2-amino-5-((2-cloro-3-fluoro-6-hidroxibencil)(etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-1)



10

Paso 1. Una solución de A-1-4 (166 mg, 951 μmol , 1 equivalente) y etilamina (129 mg, 2,85 mmol, 3,0 equivalentes) en metanol (4,8 ml) se agitó durante 1 hora a 65°C. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió NaBH₄ (53 mg, 1,4 mmoles, 1,5 equivalentes), la mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 30 minutos. La mezcla se templó con agua (15 ml) y se agitó durante 5 minutos. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 15 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 0-100% en hexano) proporciona C₉H₁₁OFCIN (175,3 mg, 860,8 μmol , 90,5% de rendimiento).

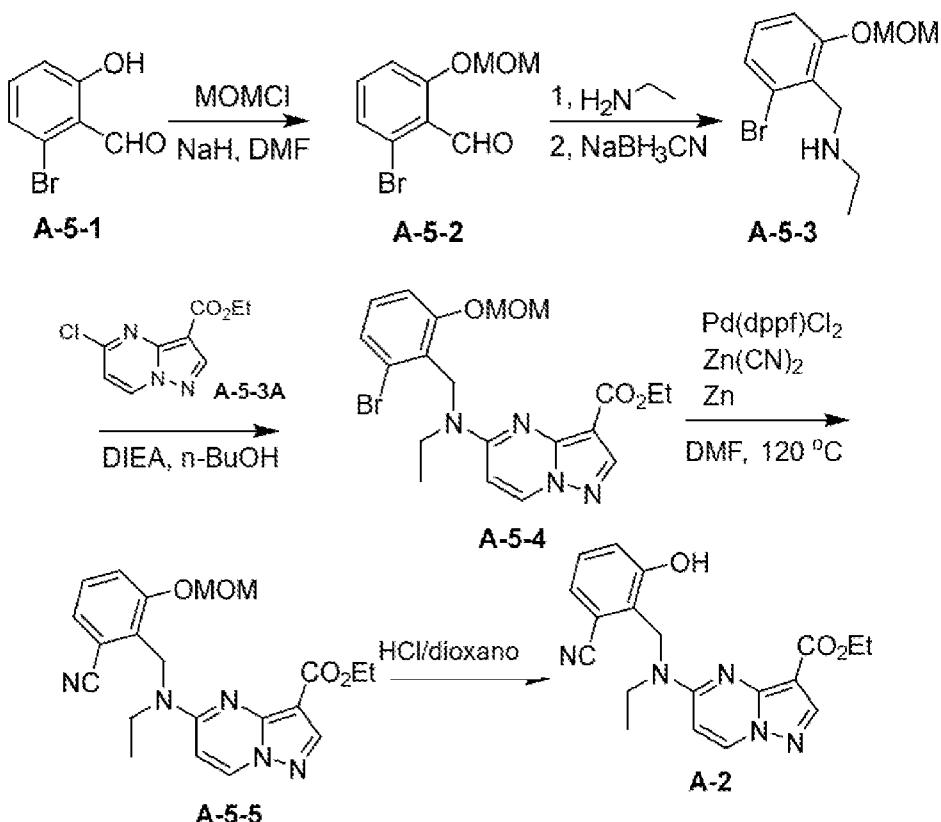
15

Paso 2. A una mezcla de A-4-1 (97,3 mg, 0,477 mmol, 1,15 equivalentes) y A-3-7 (100 mg, 0,415 mmol, 1,0 equivalente) en n-butanol (2,00 ml) se añadió DIEA (269 mg, 2,1 mmol, 5,00 equivalentes). La mezcla se calentó a 85°C y se agitó durante 20 horas. Se eliminó el solvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto A-1 (146 mg, 357 μmol , rendimiento = 86%).

Método general E (para referencia)

25

Preparación de 5-((2-ciano-6-hidroxibencil)(etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-2)

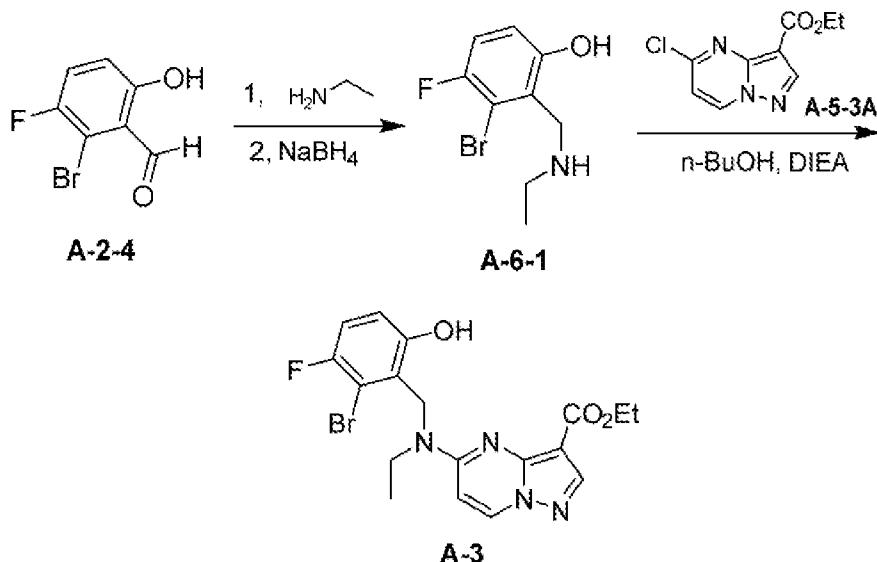


- 5 Paso 1. A una solución de A-5-1 (2,00 g, 9,95 mmol, 1,00 equivalente) en DMF (20,00 ml) se añadió hidruro de sodio (796 mg, 19,9 mmol, 60% de pureza, 2,00 equivalentes) a 0°C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 0°C durante 30 minutos, luego se añadió cloro(metoxi)metano (1,20 g, 14,92 mmol, 1,13 ml, 1,50 equivalentes) a 0°C. La mezcla se agitó a 20°C durante 3 horas. Luego la mezcla se templó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50,0 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró para dar A-5-2 (2,70 g, crudo) como un sólido amarillo. LCMS: EW6129-85-P1A (M+23: 268,9).
- 10 Paso 2. A una solución de A-5-2 (2,70 g, 11,0 mmol, 1,00 equivalente) y etanamina (745 mg, 16,5 mmol, 1,08 ml, 1,50 equivalentes) en metanol (20,0 ml) se añadió acetato de sodio (1,08 g, 13,2 mmol, 1,20 equivalentes) en una porción a 20°C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 20°C durante 30 minutos, luego se añadió cianoborohidruro de sodio (1,04 g, 16,5 mmol, 1,50 equivalentes) y se agitó a 20°C durante 15 horas. La mezcla se concentró, se diluyó con agua (30,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15,0 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30,0 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar A-5-3 (2,95 g, 10,7 mmol, rendimiento = 97,6%) como un sólido amarillo. LCMS: EW6129-100-P1B (M+1: 274).
- 15 Paso 3. A una solución de A-5-3 (2,95 g, 10,7 mmol, 1,00 equivalente) y A-5-3A (2,43 g, 10,7 mmol, 1,00 equivalente) en n-BuOH (20,0 ml) se añadió DIEA (5,56 g, 43,0 mmol, 7,51 ml, 4,00 equivalentes) en una porción a 20°C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se calentó a 95°C y se agitó durante 2 horas. Luego, la mezcla se diluyó con agua (50,0 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30,0 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (50,0 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhídrico. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 1:1) para dar A-5-4 (1,66 g, 3,58 µmol, rendimiento = 33,3%) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,32 - 8,28 (m, 2H), 7,30 - 7,28 (m, 1H), 7,17 (t, J=8,4 Hz, 1H), 7,14 - 7,08 (m, 1H), 6,55 (br s, 1H), 5,32 - 5,15 (m, 2H), 5,11 (s, 2H), 4,34 (q, J=7,2 Hz, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,34 (s, 3H), 1,38 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,14 (t, J=7,2 Hz, 3H).
- 20 Paso 4. A una solución de A-5-4 (1,50 g, 3,24 mmol, 1,00 equivalente) en DMF (20,0 ml) se le añadió Pd(dppf)Cl₂ (237 mg, 324 µmol, 0,10 equivalentes), Zn(CN)₂ (570 mg, 4,86 mmol, 308 µl, 1,50 equivalentes) y Zn (10,6 mg, 162 µmol, 0,05 equivalentes) a 20°C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se calentó a 120°C y se agitó durante 15 horas. La mezcla se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50,0 ml x 3). La capa orgánica se combinó y se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhídrico. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 1:1) para dar A-5-5 (830 mg, 2,03 mmol, rendimiento = 62,7%) como un aceite amarillo. LCMS: EW6129-107-P1A (M+1: 410,2).

5 Paso 5. A una solución de A-5-5 (730 mg, 1,78 mmol, 1,00 equivalente) en HCl/dioxano (30,0 ml) se agitó a 20°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para dar A-2 (630 mg, 1,72 mmol, rendimiento = 96,6%) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 10,84 (br s, 1H), 8,37 (d, J=7,6 Hz, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,36 - 7,31 (m, 1H), 7,24 - 7,20 (m, 2H), 6,44 (br d, J=7,6 Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,43 (q, J=7,2 Hz, 2H), 3,72 - 3,67 (m, 2H), 1,40 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,34 (t, J=7,2 Hz, 3H).

Método general F (para referencia)

10 **Preparación de 5-((2-bromo-3-fluoro-6-hidroxibencil)(etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-3)**

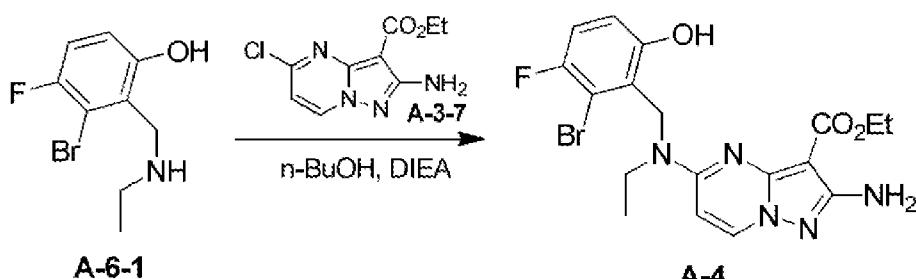


15 Paso 1. Una solución de A-2-4 (3,00 g, 13,7 mmol, 1 equivalente) y etanamina (1,24 g, 27,4 mmol, 2,00 equivalentes) en metanol (30,0 ml) se agitó durante 30 min a 25°C y luego se añadió NaBH₄ (1,04 g, 27,4 mmol, 2,00 equivalentes), la mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 12 horas. El solvente se eliminó y la mezcla resultante se diluyó con agua (20 ml), se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró para dar A-6-1 (2,40 g, 8,71 mmol, rendimiento = 63,6%) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 6,93 (t, J=8,4 Hz, 1H), 6,71 (dd, J=4,4, 8,4 Hz, 1H), 4,23 (s, 2H), 2,76 (q, J=7,2 Hz, 2H), 1,19 (t, J=7,2 Hz, 3H).

20 Paso 2. A una mezcla de A-6-1 (1,20 g, 4,84 mmol, 1,00 equivalente) y A-5-3A (1,31 g, 5,80 mmol, 1,20 equivalentes) en n-butanol (10,0 ml) se añadió DIEA (2,50 g, 19,4 mmol, 4,00 equivalentes) en una porción a 25°C bajo protección de N₂. La mezcla se calentó a 95°C y se agitó durante 2 horas. Se eliminó el solvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto A-3 (1,20 g, 2,37 mmol, rendimiento = 49,0%) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 10,40 (s, 1H), 8,37 - 8,29 (m, 2H), 7,03 (dd, J=8,0, 8,8 Hz, 1H), 6,88 (dd, J=4,8, 8,8 Hz, 1H), 6,40 (d, J=8,0 Hz, 1H), 5,18 (br s, 2H), 4,40 (q, J=7,2 Hz, 2H), 3,65 (q, J=7,2 Hz, 2H), 1,38 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,31 (t, J=7,2 Hz, 3H).

30 **Método general G**

Preparación de 2-amino-5-((2-bromo-3-fluoro-6-hidroxibencil)(etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-4)



5 Paso 1. A una mezcla de A-6-1 (0,30 g, 1,21 mmol, 1,00 equivalente) y A-3-7 (349 mg, 1,45 mmol, 1,2 equivalentes) en n-butanol (5,00 ml) se añadió DIEA (625 mg, 4,84 mmol, 4,00 equivalentes) en una porción a 25°C bajo protección de N₂. La mezcla se calentó a 95°C y se agitó durante 2 horas. Se eliminó el solvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto A-4 (250 mg, 514 µmol, rendimiento = 42,5%) como un sólido amarillo. ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ = (br s, 1H), 8,05 (d, J=7,6 Hz, 1H), 7,04 (dd, J=8,0, 8,8 Hz, 1H), 6,85 (dd, J=4,8, 8,8 Hz, 1H), 6,18 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,29 (s, 2H), 5,16 (br s, 2H), 4,40 (q, J=7,2 Hz, 2H), 3,58 (q, J=7,2 Hz, 2H), 1,39 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,29 (t, J=7,2 Hz, 3H).

10 **Preparación de 2-amino-5-((2-bromo-6-hidroxibencil)(etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-5).**

Se usaron el método general F y G para hacer A-5 comenzando con A-5-1 en el método general E.

15 **Preparación de 2-amino-5-((2-bromo-3-fluoro-6-hidroxibencil)(ciclopropilmetil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-6).**

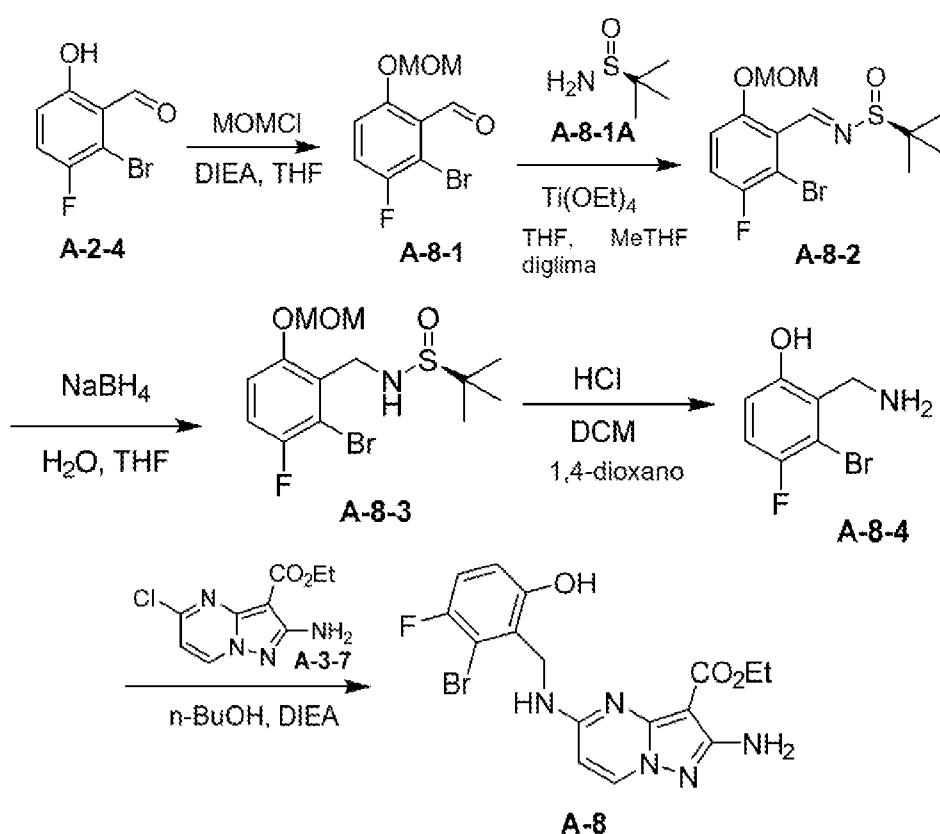
El método general D se usó para hacer A-6.

20 **Preparación de 2-amino-5-((2-bromo-3-fluoro-6-hidroxibencil)(isopropil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-7).**

El método general D se usó para hacer A-7.

25 **Método general H**

Preparación de 2-amino-5-[(2-bromo-3-fluoro-6-hidroxifenil)metil]amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-8).



30 Paso 1. A una solución de A-2-4 (250 mg, 1,14 mmol) y cloro(metoxi)metano (119 mg, 1,48 mmol, 113 µl) en THF (5,7 ml) se le añadió DIEA (368 mg, 2,85 mmol) a -78°C bajo atmósfera de Ar. La mezcla se calentó lentamente a 25°C y se agitó durante 14 horas. Luego la mezcla se templó con agua (10 ml) y se extrajo con DCM (3 x 15 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 5-15% en hexano) proporcionó A-8-1 (96,6 mg, 32% de rendimiento).

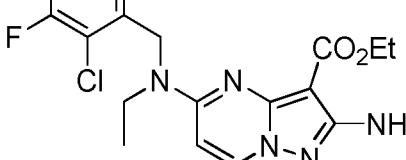
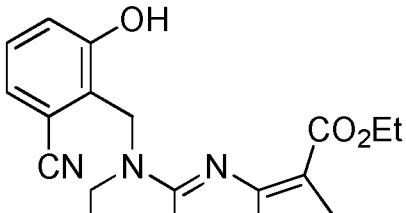
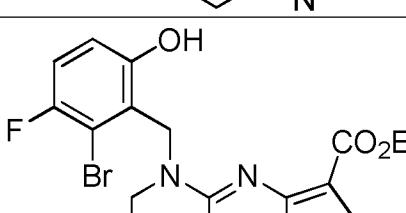
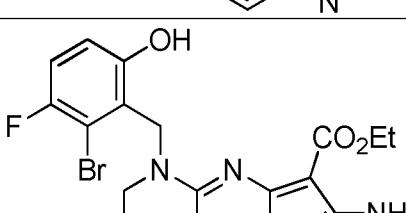
Paso 2. A una solución de A-8-1 (96,6 mg, 0,367 mmol) y A-8-1A (111 mg, 0,918 mmol) en THF (1,0 ml), Me-THF (1,0 ml) y diglima (52 μ l) se añadió Ti(OEt)₄ (586 mg, 2,57 mmol, 538 μ l) en atmósfera de Ar. La mezcla se calentó a 75°C y se agitó durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en una solución 5:1 de MeOH:agua (60 ml). A esta suspensión se le añadió celite y la mezcla se filtró a través de un lecho de celite. La almohadilla de celite se lavó con MeOH (50 ml) y acetato de etilo (50 ml). Los filtrados combinados se añadieron al agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 75 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50,0 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 0-30% en hexano) proporcionó A-8-2 (101,6 mg, 75% de rendimiento).

Paso 3. A una solución de A-8-2 (101,6 mg, 0,28 mmol) y agua (15,0 mg, 0,83 mmol) en THF (1,4 ml) a -78°C se añadió NaBH₄ (31,5 mg, 0,83 mmol) en una porción. La mezcla se calentó lentamente a 25°C y se agitó durante 14 horas. Luego, la mezcla se enfrió a -20°C y se templó con agua (10,0 ml) y se extrajo con DCM (3 x 15 ml). Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄ y luego se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 30-60% en hexano) proporcionó A-8-3 (cuantitativo).

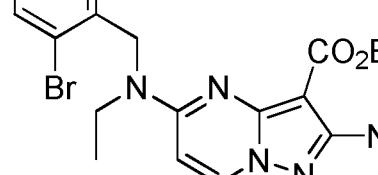
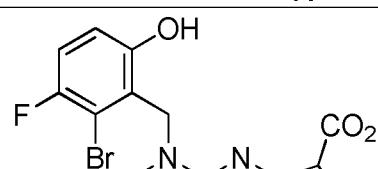
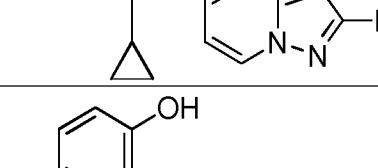
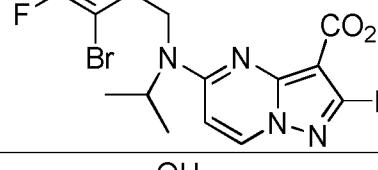
Paso 4. A una solución de A-8-3 (102 mg, 0,28 mmol, 1,00 equivalente) en DCM (4,0 ml) se añadió HCl 4M en dioxano (3,0 ml). La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 1,5 horas, luego se concentró bajo presión reducida. Los sólidos se suspendieron en DCM (5 ml) y se añadió solución saturada de bicarbonato (5 ml) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 15 ml). Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄ y luego se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (4 g), acetato de etilo al 80-100% en hexano) proporcionó A-8-4 (53,5 mg, 88% de rendimiento).

Paso 5. Se usó el método general G para hacer A-8 comenzando con A-8-4.

Los compuestos A-2 e A-3 son solamente para referencia.

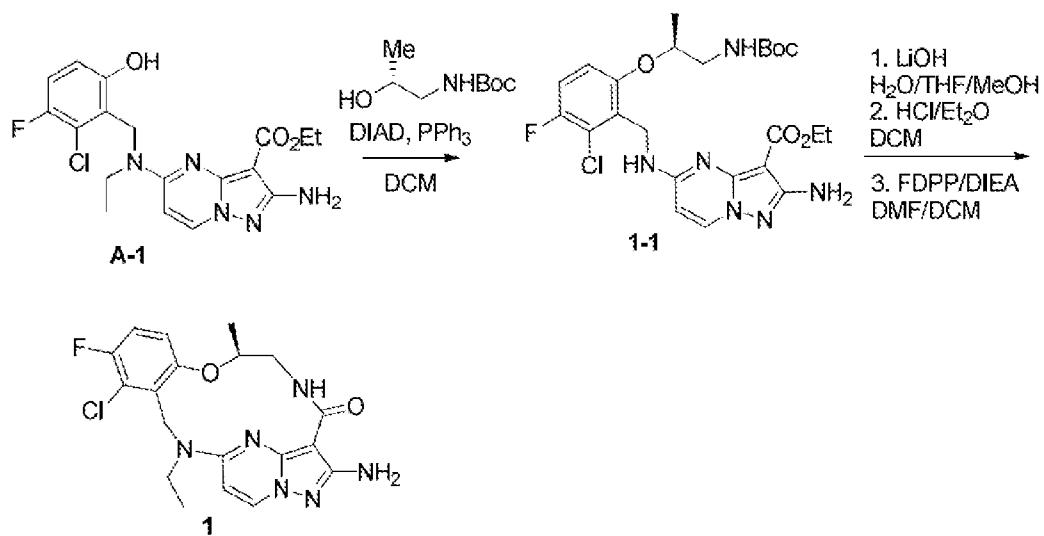
Compd#	Estructura	MS <i>m/z</i>
A-1		408,1
A-2		366,1
A-3		437,0
A-4		452,3

(continuación)

Compd#	Estructura	MS m/z
A-5		434,2
A-6		478,3
A-7		466,0
A-8		424,0

Método general H

5 Preparación de (7S)-3-amino-12-cloro-14-etil-11-fluoro-7-metil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecina-4(5H)-ona (1)

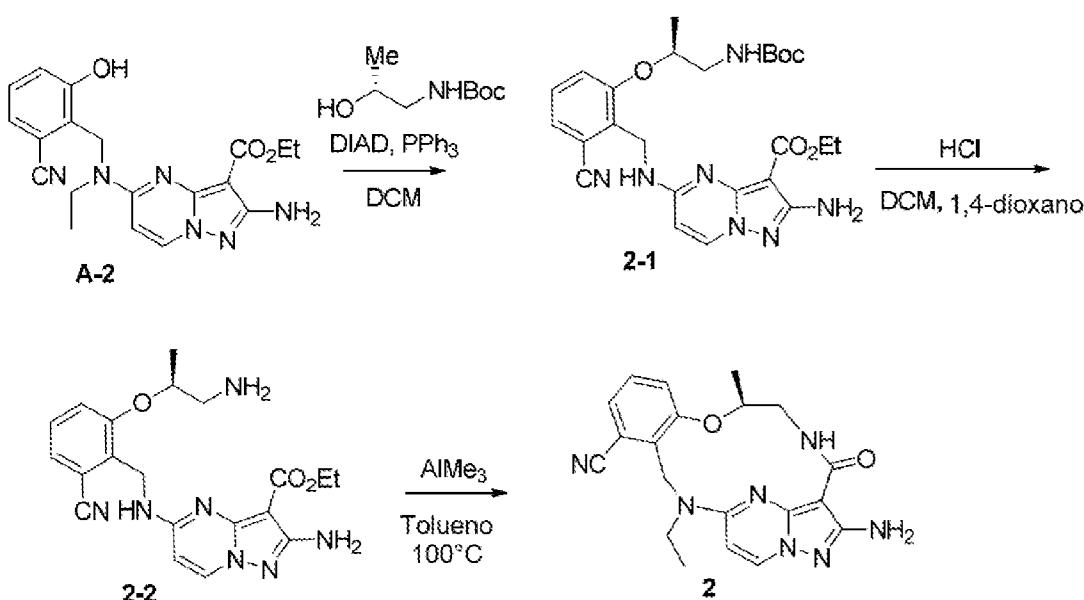


Paso 1. A una solución de fenol secado con azeótropo A-1 (50 mg, 0,12 mmol) y (R)-terc-butilo (2-hidroxipropil)carbamato (25,8 mg, 0,147 mmol) en diclorometano (300 μ l) se añadió PPh₃ (40,2 g, 0,153 mmol). La mezcla se agitó hasta que se disolvió completamente, luego se enfrió a 0°C y se añadió DIAD (32,2 mg, 0,159 mmol, 31,3 μ l) gota a gota con mezclado. La mezcla se calentó a 35°C y se agitó durante 1 hora. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 0-100% en hexano) proporcionó 1-1 impuro.

Paso 2. A una solución de 1-7 (69,2 mg, 122 μ mol) en MeOH (4 ml) y THF (2 ml) a temperatura ambiente se añadió solución acuosa de LiOH (2,0 M, 2 ml). La mezcla se calentó a 70°C durante 25 horas, se enfrió a -20°C y luego se templó con solución acuosa de HCl (2,0 M) a ácido. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 5 ml), se secó con Na₂SO₄, se concentró bajo presión reducida y se secó a alto vacío. El material crudo se disolvió en DCM (4 ml) seguido de la adición de HCl en 1,4-dioxano (4M, 3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró bajo presión reducida y se secó a alto vacío. El material crudo se disolvió en DMF (2,0 ml) y DCM (8,0 ml) y la base de Hünig (158 mg, 1,22 mmol, 213 μ l) luego FDPP (61,2 mg, 159 μ mol) se añadió en una porción. La reacción se agitó durante 3 horas y luego se templó con una solución 2M de Na₂CO₃ (5 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos y luego se extrajo con DCM (4 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), metanol al 0-7,5% en diclorometano) proporcionó 1 (11,1 mg, 26,5 μ mol, 21% de rendimiento).

Método general I

Preparación de (7S)-14-etil-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecina-12-carbonitrilo (2)

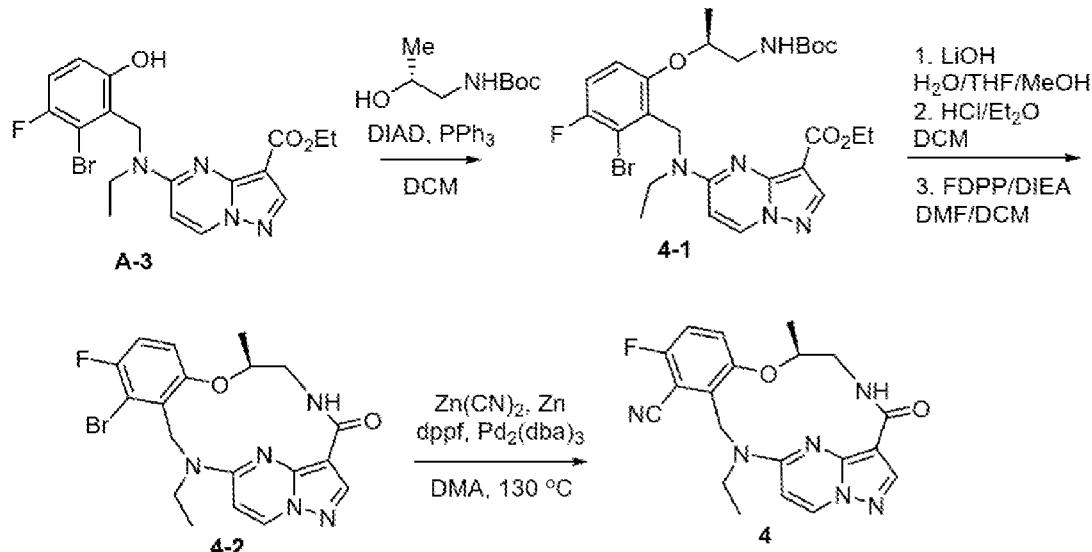


Paso 1. A una solución de fenol A-2 secado con azeótropo (100 mg, 0,274 mmol) y (R)-terc-butilo (2-hidroxipropil)carbamato (95,9 mg, 0,547 mmol) en diclorometano (182 μ l) se añadió PPh₃ (144 mg, 0,547 mmol). La mezcla se agitó hasta que se disolvió completamente, luego se enfrió a 0°C y se añadió DIAD (116 mg, 0,574 mmol, 113 μ l) gota a gota con mezclado. La mezcla se calentó a 35°C y se agitó durante 18 horas. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), acetato de etilo al 0-80% en hexano) proporcionó 2-1 (81,1 mg, 155 μ mol, 56% de rendimiento).

Paso 2. A una solución de 2-1 (81,1 mg, 155 μ mol) en DCM (1,5 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (4M, 1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró bajo presión reducida y se secó a alto vacío para proporcionar 2-2.

Paso 3. A una solución de 2-2 (65,6 mg, 155 μ mol) en tolueno (3,1 ml) se le añadió trietilaluminio en THF (2M, 465 μ l). La mezcla se calentó a 100°C y se agitó durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se templó con HCl acuoso 2,0 N (4 ml), se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), metanol al 0-10% en diclorometano) proporcionó 2 (29,0 mg, 77 μ mol, 49% de rendimiento).

El compuesto 3 se preparó de acuerdo con el Método general I.

Método general J (para referencia)5 Preparación de (7S)-14-etil-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecina-12-carbonitrilo (4)

Paso 1. A-3 se convirtió en 4-1 siguiendo el paso 1 en el método general H.

10

Paso 2. 4-1 se convirtió a 4-2 siguiendo el paso 2 en el método general H.

Paso 3. A una mezcla desgasificada de 4-2 (8,0 mg, 17,9 μ mol), $Zn(CN)_2$ (10,5 mg, 819,2 μ mol), Zn (0,12 mg, 1,8 μ mol) y dppf (3,96 mg, 7,14 μ mol) en DMA (1,12 ml) se añadió $Pd_2(dba)_3$ (3,3 mg, 3,6 μ mol). La mezcla se calentó a 15 130°C durante 3 horas. La reacción se enfrió y se añadió agua (3 ml) seguido de extracción con diclorometano (3 x 3 ml). Los extractos combinados se secaron con Na_2SO_4 y luego se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (12 g), metanol al 0-5% en diclorometano) seguido de un sistema ISCO de purificación de fase inversa, C18 (50 g, oro), acetonitrilo en agua al 0-100% con TFA al 0,035% proporcionó 4 (6,7 g, 16,7 μ mol, 95% de rendimiento).

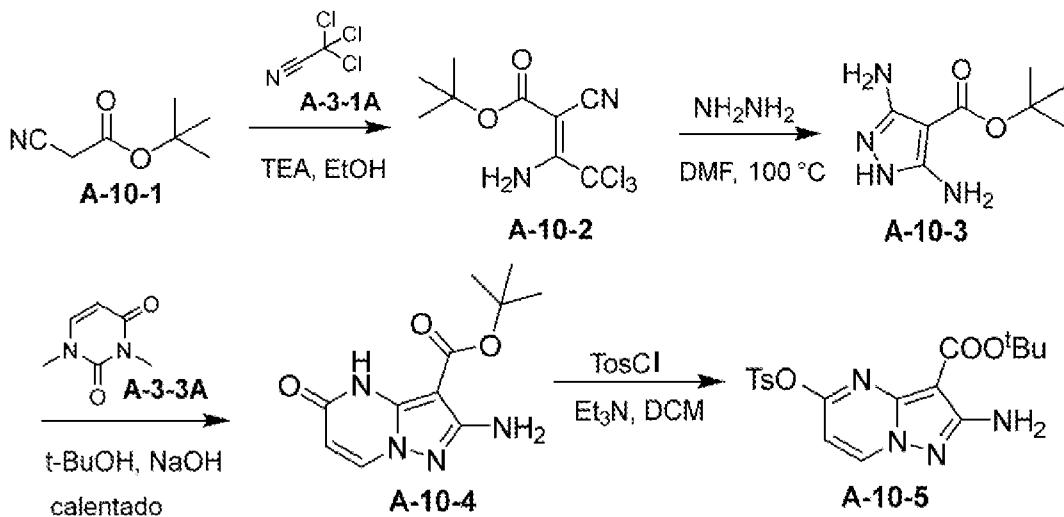
20

Los compuestos 5 a 9 se prepararon de acuerdo con el Método general I y J comenzando con A-4 a A-8 respectivamente.

25

Método general K

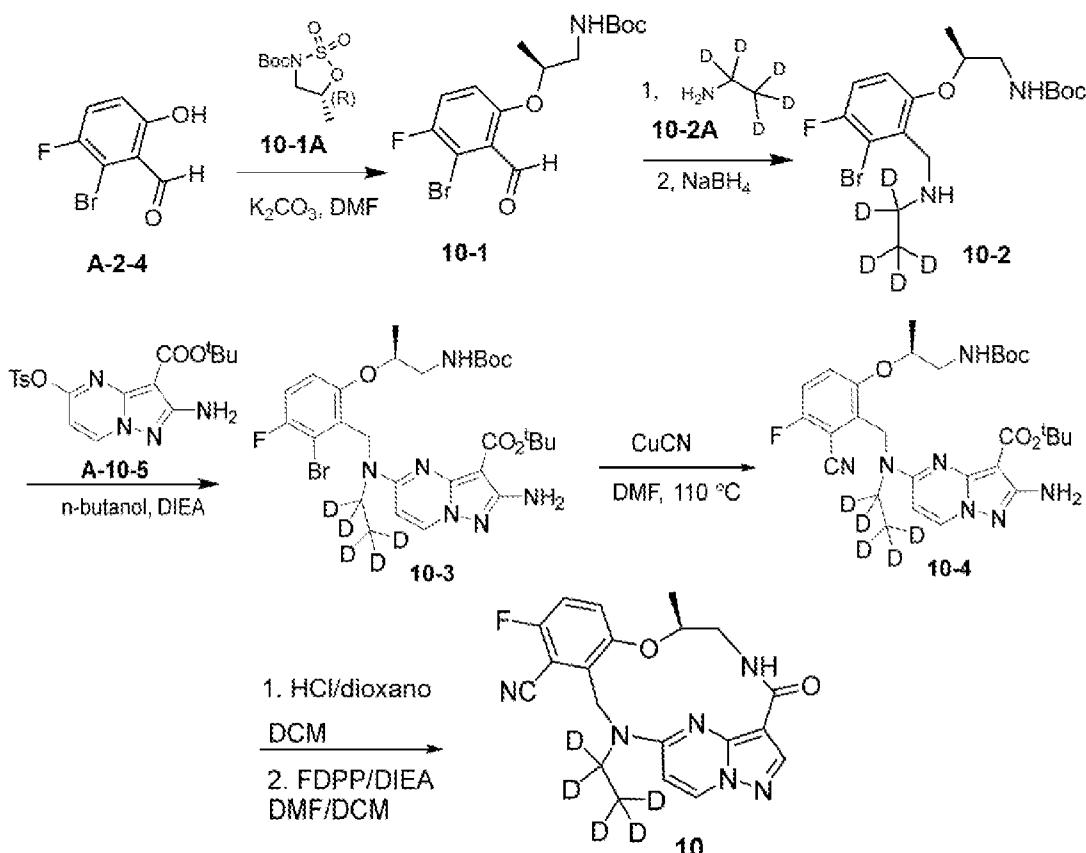
Preparación de 2-amino-5-[(4-metilbenceno-1-sulfonil)oxi]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de terc-butilo (A-10-5)



- 5 Paso 1. A una solución de A-10-1 (1,58 kg, 15,0 mol, 1,60 l, 1,0 equivalente) y trietilamina (82,2 g, 812 mmol, 113 ml, 0,054 equivalentes) en etanol (4,1 l) se añadió A-3-1A (3,80 kg, 26,30 mol, 2,64 l, 1,75 equivalentes) lentamente. La mezcla se agitó a 0-25°C durante 3 horas. La mezcla se concentró para dar el producto crudo. El residuo se trituró con la mezcla de solvente (2,0 l x 3, PE:EA = 5:1, V/V), luego la mezcla se filtró y la torta del filtro se concentró para dar A-10-2 (2,78 kg, 9,74 mol, 65% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 10,20 (br s, 1H), 6,80 (br s, 1H), 1,55 (s, 9H).
- 10 Paso 2. A una solución de A-10-2 (2,26 kg, 7,91 mol, 1,0 equivalente) en dimetilformamida (4,1 l) se añadió $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,91 kg, 19,0 mol, 1,85 l, 50% en agua, 2,40 equivalentes). La mezcla se agitó a 100°C durante 6 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró para dar el compuesto A-10-3 (2,7 kg, crudo) como un aceite marrón negro. ^1H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 5,29 (br s, 2H), 3,39 (br s, 2H), 1,47 (s, 9H).
- 15 Paso 3. A una solución de A-10-3 (1020 g, 3,70 mol, 1,0 equivalente) y A-3-3A (480 g, 3,43 mol, 0,926 equivalentes) en t-BuOH (6,0 l) se añadió etóxido de sodio (1,02 kg, 15 mol, 4,05 equivalentes recién preparado). La mezcla se agitó a 90°C durante 6 horas. La mezcla se disolvió en agua con hielo (6,0 l) y se templó con ácido acético (2 M, 2,5 l) para neutralizar PH = 6 y se extrajo con diclorometano (3,5 l x 5). La capa orgánica se lavó con salmuera (5,0 l x 3) y se secó sobre sulfato de sodio anhídrico. El solvente se concentró para dar el producto crudo y el producto crudo se trituró con solvente (3 l, PE:EA = 1:1). La suspensión se filtró y la torta del filtro se concentró para dar A-10-4 (704 g, 2,68 mol, 72,31% de rendimiento, 96% de pureza) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 7,83 (d, *J*=8,0 Hz, 1H), 5,95 (d, *J*=8,0 Hz, 1H), 4,94 (br s, 2H), 1,62 (s, 9H).
- 25 Paso 4. A una solución de A-10-4 (987 g, 3,79 mol, 1,0 equivalente) en diclorometano (6,0 l) se le añadió trietilamina (1,51 kg, 14,9 mol, 2,08 l, 3,93 equivalentes) y cloruro de paratoluensulfonilo (750 g, 3,93 mol, 1,04 equivalentes). La mezcla se agitó a 0°C-25°C durante 5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró para dar el producto crudo. El producto crudo se disolvió en diclorometano (5,0 l) y se lavó con agua (4,0 l x 3). La capa orgánica se concentró para dar el compuesto del producto A-10-5 (1,14 kg, 2,80 mol, 73,79% de rendimiento, 95,9% de pureza) como un sólido rosa. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 8,32 (d, *J*=7,2 Hz, 1H), 8,17 (d, *J*=8,4 Hz, 2H), 7,35 (d, *J*=8,0 Hz, 2H), 6,50 (d, *J*=7,2 Hz, 1H), 5,38 (s, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,65 (s, 9H).

Método general L

- 35 **Preparación de (7S)-3-amino-14-(²H₅)etil-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacicotridecina-12-carbonitrilo (10)**



Paso 1. Una solución de A-2-4 (1,0 g, 4,57 mmol), 10-1A (1,14 g, 4,79 mmol) y K_2CO_3 (1,89 g, 13,7 mmol) en DMF (15 ml) se agitó durante 3 horas a 25°C. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml) y agua (75 ml) y se

ajustó hasta que se volvió ácida con una solución de ácido cítrico al 20% y se agitó vigorosamente durante 10 minutos. La capa orgánica se eliminó y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron a sequedad. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (80 g), acetato de etilo al 10-40% en hexano) proporcionó 10-1 (1,70 g, 99% de rendimiento).

Paso 2. Una solución de 10-1 (4,09 g, 10,9 mmol) y 10-2A (1,8 g, 35,9 mmol) en metanol seco (54 ml) se agitó durante 1 hora a 50°C. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió $NaBH_4$ (822 mg, 21,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 14 horas y luego se templó con agua (75 ml). La mezcla se extrajo con DCM (3 x 75 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (40 g), acetato de etilo al 10-80% en hexano) proporcionó 10-2 (4,05 g, 90% de rendimiento).

Paso 3. A una mezcla de A-10-5 (2,8 g, 6,92 mmol), 10-2 (2,98 g, 7,27 mmol) y tamiz molecular (3g) en n-butanol (10,0 ml) se añadió DIEA (4,47 g, 34,6 mmol). La mezcla se calentó a 90°C y se agitó durante 26 horas. La reacción se enfrió y se diluyó con DCM (100 ml) y luego se filtró a través de celite. El filtrado se lavó con solución de Na_2CO_3 1M (50 ml) y luego con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (120 g), acetato de etilo al 0-60% en diclorometano) proporcionó 10-3 (4,07 g, 91% de rendimiento).

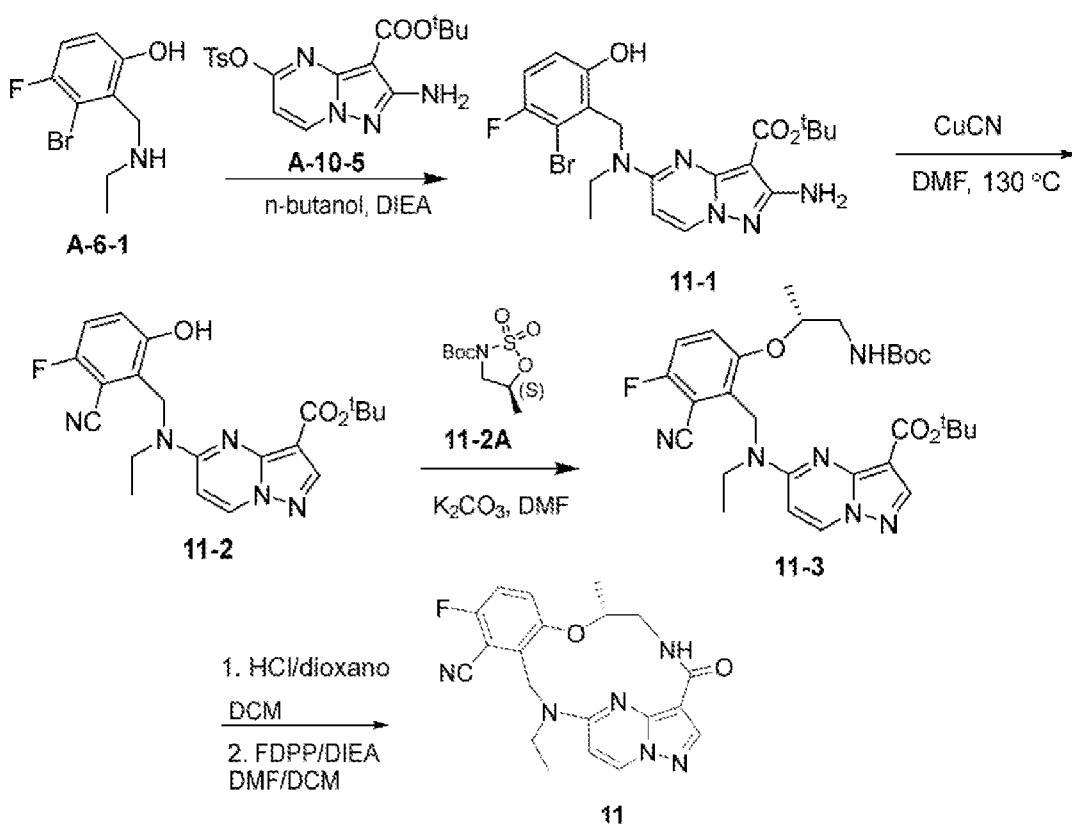
Paso 4. A una solución desgasificada de 10-3 (4,07 g, 6,33 mmol) en DMF (12,6 ml) se añadió CuCN (850 mg, 9,5 mmol). La mezcla se calentó a 110°C y se agitó durante 39 horas. La reacción se enfrió y se diluyó con DCM (15 ml) y luego se añadió solución de NH_4OH 6M (50 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 15 minutos, luego se extrajo con DCM (4 x 35 ml) y los extractos combinados se volvieron a mezclar vigorosamente con una solución de NH_4OH 6M (50 ml) durante 30 minutos, se extrajo con DCM (3 x 50 ml) y se repitió el tratamiento con solución de NH_4OH 2 veces más. Los extractos combinados se secaron con salmuera (50 ml), luego Na_2SO_4 y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (120 g), acetato de etilo al 20-60% en diclorometano) seguido de purificación de fase inversa (sistema ISCO, C18 (50 g, oro), 0-100% de acetonitrilo en agua con 0,035% de TFA, 6 inyecciones) proporcionaron 10-4 (2,82 g, 75% de rendimiento).

Paso 5. A una solución de 10-4 (2,82 mg, 4,80 mmol) en DCM (25 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (4 M, 20 ml, 80

mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se concentró bajo presión reducida y se secó a alto vacío. El material crudo se disolvió en DMF (10 ml) y DCM (60 ml) y la base de Hünig (1,56 g, 120 mmol, 21 ml) luego FDPP (2,02 g, 5,27 mmol) se añadió en una porción. La reacción se agitó durante 87 horas y luego se templó con una solución de Na_2CO_3 2M (100 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos y luego se extrajo con DCM (3 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con solución de Na_2CO_3 2M (100 ml), salmuera (100 ml) y se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (sistema ISCO, sílice (120 g), metanol al 1,25-6,25% en diclorometano) proporcionó 10 (1,59 g, 79% de rendimiento).

Método general M (para referencia)

Preparación de (7R)-3-amino-14-etil-11-fluoro-7-metil-4-oxo-4,5,6,7,13,14-hexahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecina-12-carbonitrilo (11)



Paso 1. A una solución de A-6-1 (438,42 g, 1,70 mol, 1,0 equivalente) y A-10-5 (690 g, 1,70 mol, 1,0 equivalente) en n-BuOH (6,0 l) se añadió diisopropiletilamina (742 g, 5,74 mol, 1,0 l, 3,38 equivalentes) y 4A MS (200 g). La mezcla se agitó a 90°C durante 8 horas. La TLC (PE:EA = 1:1) mostró que el compuesto 7 se consumió y se encontraron dos nuevas manchas. La mezcla se filtró a 50°C y el filtrado se templó con agua (8,0 l) y se extrajo con acetato de etilo (4,0 l x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (4,0 l x 3), se secó sobre sulfato de sodio anhídrico y se concentró para dar el producto crudo. La torta del filtro se agitó en n-BuOH (2,0 l) a 90°C durante 1 hora, luego se filtró a 50°C, repitió este trabajo durante tres veces hasta que no quedó ningún producto deseado que se monitoreó por TLC, luego el filtrado se concentró hasta dar producto crudo. Todos los residuos se trituraron con solvente de mezclado [500 ml x 3; acetato de etilo: éter de petróleo = 1:2 (v/v)] y el líquido madre se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 0:1) para dar 11-1 (570 g, 1,10 mol, 65,1% de rendimiento, 93,4% de pureza) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 10,31 (s, 1H), 8,02 (d, *J*=7,6 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J*=8,0, 8,8 Hz, 1H), 6,82 (dd, *J*=4,8, 8,8 Hz, 1H), 6,14 (d, *J*=7,6 Hz, 1H), 5,29 (s, 2H), 5,17 (br s, 2H), 3,54 (q, *J*=7,2 Hz, 2H), 1,60 (s, 9H), 1,26 (t, *J*=7,2 Hz, 3H).

Paso 2. A una solución de 11-1 (8,00 g, 16,7 mmol, 1,00 equivalente) en dimetilformamida (25,0 ml) se le añadió cianuro cuproso (2,24 g, 24,9 mmol, 5,46 ml, 1,50 equivalentes). La mezcla se agitó a 130°C durante 10 horas. La mezcla de reacción se añadió con hidróxido de amonio (10,0 ml) y se diluyó con agua (300 ml). Luego, la mezcla se extrajo con acetato de etilo (300 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con cloruro de amonio saturado (100 ml x 5), se secaron sobre sulfato de sodio saturado, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativo (columna: Phenomenex Gemini C18 250*50 mm*10 um; fase móvil: [agua (0,05% de hidróxido de amoniaco v/v)-ACN]; B%: 40%-60%, 45MIN; 70% min).

para dar 11-2 (2,00 g, 4,54 mmol, 27,2% de rendimiento, 96,7% de pureza) como un sólido marrón. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 10,66 (br s, 1H), 8,38 (d, J =7,6 Hz, 1H), 7,31 (t, J =9,2 Hz, 1H), 7,16 (dd, J =4,8, 8,8 Hz, 1H), 6,52 (d, J =7,6 Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 4,94 (br s, 2H), 3,50 (br d, J =6,8 Hz, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,10 (t, J =6,8 Hz, 3H).

- 5 Paso 3. A una solución de 11-2 (2,05 g, 4,81 mmol, 1,00 equivalente) en dimetilformamida (20,0 ml) se le añadió carbonato de potasio (1,66 g, 12,0 mmol, 2,50 equivalentes) y 11-2A (1,71 g, 7,21 mmol, 1,50 equivalentes). La mezcla se agitó a 30°C durante 6 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml x 3), se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Phenomenex Gemini C18 250*50 mm*10 um; fase móvil: [agua (0,05% de hidróxido de amoníaco v/v)-ACN]; B%: 50%-80%, 25MIN80% min) para dar 11-3 (1,80 g, 3,05 mmol, 63,4% de rendimiento, 98,9% de pureza) como un sólido amarillo claro. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8,36 (d, J =8,0 Hz, 1H), 7,52 - 7,40 (m, 2H), 6,96 (br s, 1H), 6,52 (br d, J =7,6 Hz, 1H), 5,93 (s, 2H), 5,12 - 4,91 (m, 2H), 4,58 - 4,44 (m, 1H), 3,44 (br s, 2H), 3,21 - 3,09 (m, 1H), 3,08 - 2,95 (m, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,34 (s, 9H), 1,11 (d, J =6,4 Hz, 3H), 1,07 (t, J =6,8 Hz, 3H).
- 10
- 15

Paso 4. 11-3 se convirtió en 11 después del paso 5 en el Método General L. Los compuestos 2-4 son solamente para referencia

Cpd	Estructura	MS m/z	^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm
1		419,1	8,84 (t, J =4,68 Hz, 1H) 8,35 (d, J =7,70 Hz, 1H) 7,18 - 7,30 (m, 1H) 7,07 - 7,18 (m, 1H) 6,48 (d, J =7,89 Hz, 1H) 5,81 (s, 2H) 5,55 (dd, J =15,04, 1,83 Hz, 1H) 4,80 - 4,92 (m, 1H) 3,97 - 4,13 (m, 2H) 3,67 - 3,83 (m, 2H) 3,22 - 3,29 (m, 1H) 1,44 (d, J =6,05 Hz, 3H) 1,18 (t, J =6,97 Hz, 3H)
2		377,2	9,05 - 8,95 (m, 1H), 8,78 (d, J =7,9 Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,49 (dd, J =2,6, 7,0 Hz, 1H), 7,40 - 7,29 (m, 2H), 6,95 (d, J =8,0 Hz, 1H), 5,51 (d, J =15,1 Hz, 1H), 5,02 - 4,86 (m, 1H), 4,39 - 4,13 (m, 2H), 3,90 - 3,74 (m, 2H), 3,32 - 3,21 (m, 1H), 1,48 (d, J =6,2 Hz, 3H), 1,23 - 1,17 (m, 3H)
3		363,2	8,88 (dd, J =3,3, 5,8 Hz, 1H), 8,78 (d, J =7,9 Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,51 (dd, J =3,0, 6,6 Hz, 1H), 7,41 - 7,33 (m, 2H), 6,95 (d, J =8,0 Hz, 1H), 5,54 (d, J =15,1 Hz, 1H), 4,72 - 4,59 (m, 1H), 4,51 (ddd, J =5,3, 9,2, 11,6 Hz, 1H), 4,35 - 4,13 (m, 2H), 3,83 (dd, J =7,2, 15,3 Hz, 1H), 3,73 - 3,49 (m, 2H), 1,20 (t, J =7,0 Hz, 3H)
4		395,2	8,93 (t, J =4,9 Hz, 1H), 8,80 (d, J =7,9 Hz, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,55 (dd, J =4,7, 9,4 Hz, 1H), 7,32 (t, J =8,9 Hz, 1H), 6,96 (d, J =8,0 Hz, 1H), 5,55 - 5,43 (m, 1H), 4,99 - 4,85 (m, 1H), 4,34 (d, J =15,3 Hz, 1H), 4,28 - 4,15 (m, 1H), 3,38 - 3,28 (m, 1H), 1,47 (d, J =6,1 Hz, 3H), 1,20 (t, J =7,0 Hz, 3H)

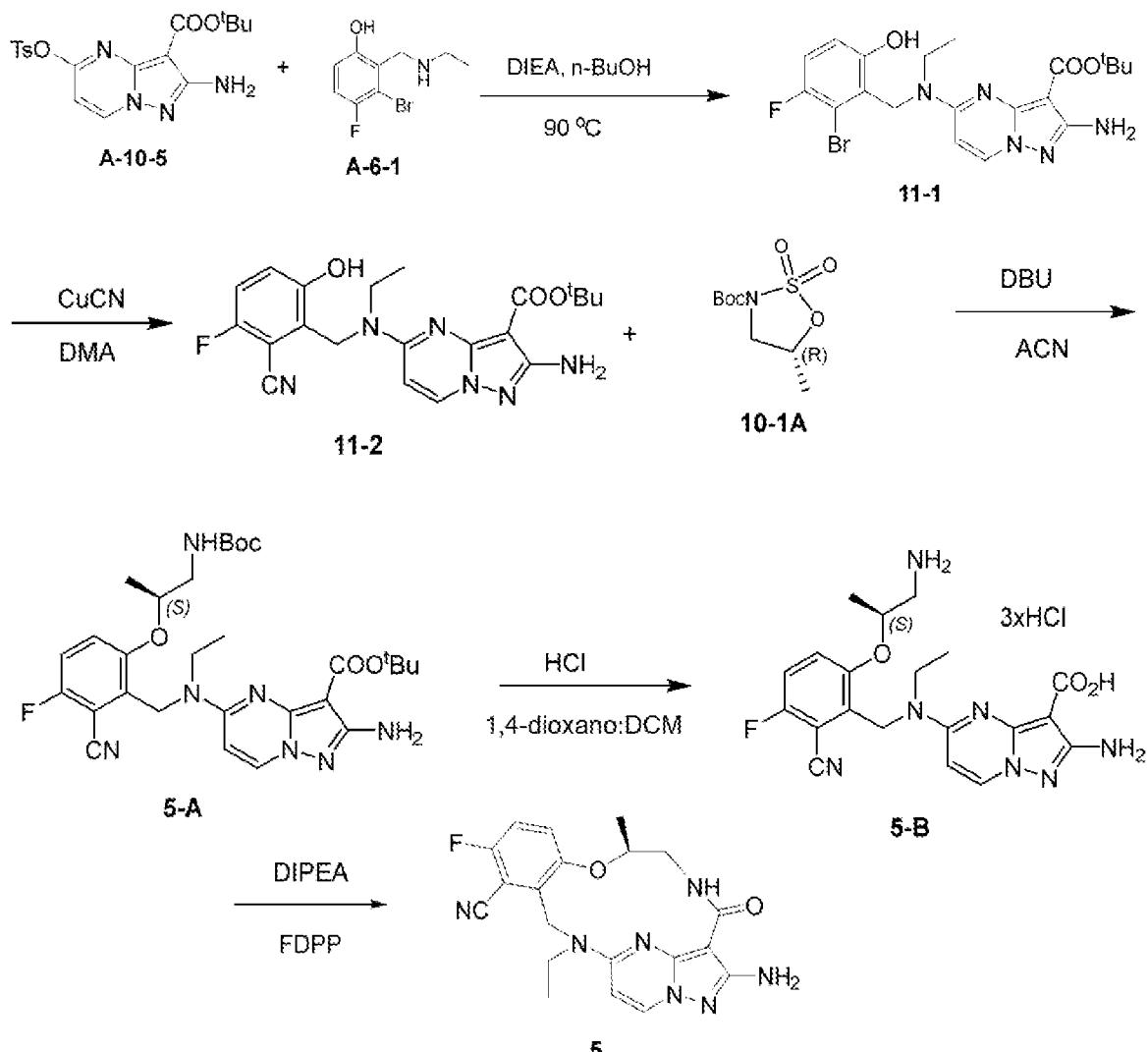
(continuación)

(continuación)

Cpd	Estructura	MS m/z	1H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ ppm
11		410,1	8,69 (br t, $J=4,72$ Hz, 1 H) 8,41 (d, $J=7,61$ Hz, 1 H) 7,53 (dd, $J=9,40$, 4,72 Hz, 1 H) 7,31 (t, $J=8,89$ Hz, 1 H) 6,60 (d, $J=7,70$ Hz, 1 H) 5,85 (s, 2 H) 5,44 (br d, $J=15,31$ Hz, 1 H) 4,83 - 5,00 (m, 1 H) 4,26 (br d, $J=15,31$ Hz, 1 H) 4,00 - 4,18 (m, 1 H) 3,61 - 3,81 (m, 2 H) 3,23 - 3,31 (m, 1 H) 1,46 (d, $J=6,24$ Hz, 3 H) 1,17 (t, $J=6,88$ Hz, 3 H)

Preparación a gran escala del compuesto 5

5



10 Se cargó el reactor con A-10-5 (1,0 equivalente), A-6-1 (1,1 equivalentes), DIPEA (3,0 equivalentes) y n-butanol (10 vol). La mezcla resultante se calentó a 90-95°C durante 10 h. El progreso de la reacción se controló por HPLC, el 2% de A-10-5 reveló que la reacción se ha completado. Después de pasar una prueba de IPC, la mezcla de reacción se enfrió a 0-5°C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Los sólidos se filtraron y se lavaron con MTBE frío (2 x 0,5 volúmenes). Los sólidos se secaron al horno de vacío a 40-50°C hasta peso constante con un rendimiento de 2950 g (75%) y 99,9% de pureza por HPLC.

15

Se cargó el reactor con 11-1 (1,0 equivalente), DMA (5 vol) y CuCN (2,5 equivalentes). La mezcla resultante se calentó a 90-100°C durante 92 horas. El progreso de la reacción se monitoreó por HPLC, NMT 2% de 11-1 reveló que la reacción se ha completado. Después de pasar una prueba de IPC. Se transfirió la mezcla de reacción a un segundo reactor que contenía DCM (46 l, 15 vol), Celite (3073 g) a 35-40°C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 20-30°C. Se filtró la mezcla de reacción a través de un lecho de celite de una pulgada y se lavó con DCM (2 x 5 vol). El filtrado se cargó con Celite (3073 g), carbón (1000 g) y regulador de pH (H₂O/NH₄Cl/NH₄OH, 9,4/4,0/3,8; 31 l, 10 v) para filtrar. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 20-30°C. Se filtró la mezcla de reacción a través de un lecho de celite de una pulgada y se lavó con DCM (2 x 5 vol). Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó con regulador de pH (2x 31 l, 2x10 v) y agua (2 x 10 vol). Se concentró el orgánico al volumen mínimo y se co-evaporó con MTBE (2 x 5 vol). La mezcla de reacción se enfrió a 15-30°C y se agitó durante 4 horas. Los sólidos se filtraron y se lavaron con metanol frío (2 x 1 volumen). Los sólidos se secaron bajo vacío al horno a 40-50°C hasta peso constante con un rendimiento de 2310 g (82%) y 99% de pureza por HPLC.

5 Se cargó el reactor con 11-2 (1,0 equivalente), 10-1A (1,15 equivalentes), acetonitrilo (5 vol) y DBU (2,5 equivalentes). La mezcla resultante se agitó a 20-30°C durante 2 horas. El progreso de la reacción se controló por HPLC, el 1% de 11-2 reveló que la reacción se ha completado. Después de pasar una prueba de IPC. El reactor se cargó en acetato de etilo (10 vol) y solución de ácido cítrico al 25% en peso (10 vol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y separó las capas y se extrajo nuevamente la capa acuosa con acetato de etilo (10 volúmenes). La capa orgánica combinada se concentró hasta un volumen mínimo y se co-evaporó con DCM (2 x 5 vol). 10 Concentrado a sequedad obtuvo 1630 g (92%) y 99% de pureza por HPLC.

15 Se cargó el reactor con 5-A (1,0 equivalente), DCM (10 vol) y HCl 4M en dioxano (10 equivalentes). La mezcla resultante se agitó a 20-30°C durante 2 horas. El progreso de la reacción se monitoreó por HPLC, el 1% de 5-A reveló que la reacción se ha completado. Después de pasar una prueba de IPC. Los sólidos se filtraron, se lavaron con MTBE (2 x 5 vol) y se secaron los sólidos en un filtro con vacío bajo nitrógeno para obtener un rendimiento con 20 25 1450 g (se supone 100% 1300 g) y 97% de pureza.

20 Se cargó el reactor con 5-B (1,0 equivalente), DIPEA (5,0 equivalentes) y DCM (20 vol) y DMF (1 vol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante (15-30°C) durante 15-30 min. Reactor se cargó con FDPP (1,3 equivalentes) en una porción. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante (15-30°C) durante la noche. El progreso de la reacción se monitoreó por HPLC, el 1% de 5-B reveló que la reacción se ha completado. Después de pasar una prueba de IPC. El reactor se cargó con una solución de Na₂CO₃ 1M (10 volúmenes). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos. y separó las capas. La capa orgánica se lavó con solución de Na₂CO₃ 1M (10 volúmenes) y agua (2 x 10 vol) y salmuera (50 volúmenes). La capa orgánica concentró el orgánico al volumen mínimo y se co-evaporó con metanol (2 x 5 vol). La capa orgánica se secó con MgSO₄ y carbón y se filtró 25 30 35 la capa orgánica a través de papel GF y se concentró el orgánico al volumen mínimo y se co-evaporó con etanol (2 x 5 vol). Se concentró hasta sequedad y se añadió EtOH (2 l) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los sólidos se filtraron y se lavaron con metanol frío (2 x 1 volumen). Los sólidos se secaron al horno de vacío a 40-50°C hasta peso constante con un rendimiento de 850 g (86%).

30 40 Se cargó el reactor con crudo 5 (1,0 equivalente) y agua (12 vol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Los sólidos se filtraron y se lavaron con agua (2 x 1 volumen). Los sólidos se secaron al horno de vacío a 40-50°C hasta peso constante con un rendimiento de 723 g (86%) y 98,7% de pureza por HPLC.

45 **Ensayos biológicos**

Ensayos in vitro

Materiales y métodos

50 **Método de ensayo de quinasa bioquímica**

55 El ensayo de quinasa bioquímica se realizó en Reaction Biology Corporation (www.reactionbiology.com, Malvern, PA) siguiendo los procedimientos descritos en la referencia (Anastassiadis T, et al *Nat Biotechnol*. 2011, 29, 1039). Se prepararon pares específicos de quinasa/sustrato junto con cofactores requeridos en regulador de pH de reacción; Hepes 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, EGTA 1 mM, Brij35 al 0,02%, BSA 0,02 mg/ml, Na₃VO₄ 0,1 mM, DTT 2 mM, DMSO al 1% (para detalles específicos de los componentes individuales de la reacción de la quinasa, véase el cuadro complementario 2). Los compuestos se suministraron en la reacción, seguidos ~20 minutos después mediante la adición de una mezcla de ATP (Sigma, St. Louis MO) y ³³P ATP (Perkin Elmer, Waltham MA) a una concentración final de 10 μM. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 120 minutos, seguido de la detección de las reacciones en papel de filtro de intercambio iónico P81 (Whatman Inc., Piscataway, NJ). El fosfato no unido se eliminó mediante lavado exhaustivo de filtros en ácido fosfórico al 0,75%. Después la sustracción el fondo derivado de las reacciones de control que contienen enzima inactiva, los datos de la actividad de la quinasa se expresaron como el porcentaje de actividad de la quinasa restante en las muestras de prueba en comparación con las reacciones del vehículo (dimetilsulfóxido). Los valores de IC₅₀ y los ajustes de curva se obtuvieron usando Prism (software GraphPad).

60 65

Líneas celulares y cultivo celular

5 La línea celular de cáncer gástrico humano SNU-5, las líneas celulares de cáncer de pulmón HCC827, H1975, la línea celular de leucemia mielógena de ratón M-NFS-60 se obtuvieron de ATCC. Las líneas celulares Ba/F3, MKN-45 se compraron de DSMZ. La línea celular SNU-216 se adquirió de KCLB.

Clonación y creación de línea celular estable Ba/F3

10 El ADNc TEL-CSF-1R se sintetizó en GenScript y se clonó en plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-puro (System Biosciences, Inc). Ba/F3 TEL-CSF1R se generó transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contenía el clón de ADNc TEL-CSF1R. Se seleccionaron líneas celulares estables mediante tratamiento con puromicina, seguido de retirada de IL-3. Brevemente, las células 1×10^6 Ba/F3 se transdujeron con sobrenadante de lentivirus en presencia de 8 µg/ml de sulfato de protamina. Las células transducidas se seleccionaron posteriormente con 1 µg/ml de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más 10% de FBS. Después de 10-12 días de selección, las células supervivientes se seleccionaron adicionalmente para crecimiento independiente de IL3.

Ensayos de proliferación celular

20 Se sembraron dos mil células por pozo en una placa blanca de 384 pozos durante 24 horas, y luego se trataron con compuestos durante 72 horas (37°C, 5% de CO₂). La proliferación celular se midió usando el ensayo de detección de ATP basado en luciferasa CellTiter-Glo (Promega) siguiendo el protocolo del fabricante. Las determinaciones de IC₅₀ se realizaron usando el software GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

25 Inmunotransferencia para ensayos de fosforilación de quinasas celulares

30 Las líneas celulares de carcinoma gástrico MKN-45, SNU-5 (ambas con sobreexpresión MET), células HCC827 (que albergan la mutación endógena EGFR de E1746_A750), células NCI-H1975 (que albergan mutaciones dobles EGFR endógenas L858R/T790M) o células SNU216 se cultivaron en medio RPMI 1640, suplementado con suero bovino fetal al 10% y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Se sembraron medio millón de células por pozo en una placa de 24 pozos durante 24 horas y luego se trataron con compuestos durante 4 horas. Las células se recogieron después del tratamiento y se lisaron en regulador de pH RIPA (Tris 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, NP-40 al 1%, desoxicolato al 0,5%, SDS al 0,1%) suplementado con EDTA 10 mM, proteasa de detención 1X e inhibidores de fosfatasa (Thermo Científico). Los lisados de proteínas (aproximadamente 20 µg) se resolvieron en geles prefabricados de Bolt Bis-Tris al 4-12% con regulador de pH de ejecución MES (Life Technologies), se transfirieron a membranas de nitrocelulosa usando Sistema de transferencia Trans-Blot Turbo (Bio-Rad) y se detectaron con anticuerpos dirigidos de MET fosforilado (Y1234/Y1235) (Tecnología de señalización celular), MET (Y1349), MET (Y1003), MET total (Tecnología de señalización celular), EGFR fosforilado (Y1068) y EGFR total (Tecnología de señalización celular), STAT3 y STAT5 fosforilados, STAT3 y STAT5 totales (Tecnología de señalización celular), 40 AKT fosforilado (Tecnología de señalización celular), AKT total (Tecnología de señalización celular), ERK fosforilado (Tecnología de señalización celular), ERK total (Tecnología de señalización celular), PLCγ2 fosforilado y PLCγ2 total (Tecnología de señalización celular), SRC Y416 fosforilada (Tecnología de señalización celular), SRC total (Tecnología de señalización celular), paxilina fosforilada Y118 (Tecnología de señalización celular), paxilina total (Tecnología de señalización celular), PARP, actina (Tecnología de señalización celular). Los anticuerpos se incubaron típicamente durante la noche a 4°C con agitación suave, seguido de lavados e incubación con los anticuerpos secundarios conjugados con HRP apropiados. Las membranas se incubaron con sustrato quimioluminiscente durante 5 minutos a temperatura ambiente (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific). Las imágenes quimioluminiscentes se adquirieron con un sistema de imágenes C-DiGit (LI-COR Biosciences). La densidad relativa de las bandas quimioluminiscentes se cuantificó a través de Image Studio Digits de LICOR. El valor de la concentración inhibitoria media (IC₅₀) se calcula utilizando un análisis de regresión no lineal a través del software GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

Ensayos de cicatrización de heridas por arañazos

55 Se sembraron células MKN-45 o HCC827 en una placa de 24 pozos. Después de 12-24 horas, las monocapas de células confluentes se rasparon suavemente con una punta de pipeta estéril para formar un rasguño. Las placas se lavaron con medio nuevo y las células se incubaron con medio solo o medio que contenía diversas concentraciones de compuestos. Después de 36-48 horas, las placas se examinaron y registraron mediante un microscopio EVOS FL (Life Technology) para monitorear el resellado de la monocapa celular.

60 Métodos in vivo**Líneas celulares**

65 Se cultivaron células MKN-45 y Ba/F3 ETV6-CSF1R usando técnicas estándar en medio RPMI-1640 (Corning, Inc) con suero bovino fetal al 10% (Thermo Fisher Scientific, Inc) a 37°C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂.

Para la implantación, las células se cosecharon y sedimentaron por centrifugación a 250 g durante 2 minutos. Las células se lavaron una vez y se resuspendieron en medio libre de suero suplementado con 50% de matrigel (v/v).

Modelos de xenoinjerto subcutáneo en ratones inmunes comprometidos

5 Se obtuvieron ratones desnudos atípicos hembra (5-8 semanas de edad) del Laboratorio Charles River y se alojaron en jaulas desechables Innovaive IVC en bastidores ventilados con filtro HEPA con acceso *ad libitum* a alimento para roedores y agua. Cinco millones de células en 100 μ l de medio libre de suero suplementado con 50% de matrigel (Corning, Inc) se implantaron por vía subcutánea en la región del flanco derecho del ratón. El tamaño del tumor y el peso corporal se midieron en días designados. El tamaño del tumor se midió con un calibrador electrónico y el volumen del tumor se calculó como el producto de longitud*ancho²*0,5. Los ratones se aleatorizaron por tamaño de tumor en grupos de tratamiento cuando el volumen del tumor alcanzó aproximadamente 200 mm³ y el Compuesto 5 se administró por vía oral (BID) a dosis determinadas.

10

15

Procesamiento tumoral e inmunotransferencia para estudios farmacodinámicos *in vivo*

20 Los ratones con tumores de xenoinjerto se sacrificaron humanamente y los tumores se resecaron y se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C. Las muestras de tumor congeladas se procesaron a 4°C en regulador de pH de lisis celular 1x (Cell Signaling Technologies) para extraer proteínas. Las muestras de carga de SDS se prepararon agregando un volumen de regulador de pH de muestra LDS 4X (Life Technologies, Inc) a tres volúmenes de lisado de proteínas. Las muestras de proteína SDS tumoral se procesaron mediante SDS-PAGE y se inmunotransferieron con MET anti-fosforilado de conejo, anti-MET de ratón y anticuerpos anti-actina de ratón (Tecnologías de señalización celular). Las señales de inmunoblot se detectaron por escáner de blot C-DIGIT y la intensidad de la señal se cuantificó utilizando el software Image Studio Digit (LI-COR).

25

Modelo de xenoinjerto subcutáneo derivado del paciente en ratones inmunocomprometidos

30 Se obtuvieron ratones desnudos BALB/c hembra (6-7 semanas) de Beijing Anikeeper Biotech Co. Ltd (Beijing, China). Los tumores primarios de xenoinjerto de tumor humano modelo LU2503 se cultivaron en ratones de reserva. Se recogieron fragmentos de tumor (2-3 mm de diámetro) de ratones de reserva y se inocularon en la parte delantera derecha de cada ratón para el desarrollo del tumor. Se inscribieron 16 ratones en el estudio. Todos los animales fueron asignados aleatoriamente a los 2 grupos de estudio diferentes. El tamaño del tumor y el peso corporal se midieron en días designados. El tamaño del tumor se midió usando un calibrador y el volumen del tumor se calculó como el producto de longitud*ancho²*0,5. Los ratones se aleatorizaron por tamaño del tumor en grupos de tratamiento cuando el volumen del tumor alcanzó aproximadamente 200 mm³ y el Compuesto 5 se administró por vía oral (BID) a 15 mg/kg.

35

Modelo singénico MC38 subcutáneo en ratones C57BL/6J

40 Se compraron ratones hembra C57BL/6J (6 semanas) de Jackson Laboratory, y se mantuvieron de acuerdo con las directrices para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Se implantaron por vía subcutánea medio millón de células cancerosas MC38 en 100 μ l de medio libre de suero en la región del flanco derecho del ratón. El tamaño del tumor y el peso corporal se midieron en días designados. El tamaño del tumor se midió con un calibrador electrónico y el volumen del tumor se calculó como el producto de longitud*ancho²*0,5. Los ratones se aleatorizaron por tamaño del tumor en grupos de tratamiento cuando el volumen del tumor alcanzó aproximadamente 70-90 mm³. El control del vehículo, el Compuesto 5, el anticuerpo PD-1 o el Compuesto 5 más el anticuerpo PD-1 se administraron por vía oral (BID) a dosis determinadas.

45

Estudios de biomarcadores de PD del modelo singénico MC38

50 Los tumores MC38 se recogieron el día 7 y el día 11. Los tumores recogidos se disociaron usando MiltenyiGentleMax. El análisis FACS de los tumores se realizó para las células inmunes asociadas al tumor que incluyen los macrófagos asociados al tumor (TAM) y los subtipos TAM (M1 y M2), las células de supresión derivadas de mieloides (MDSC), linfocitos T citotóxicos (CTL, es decir, células T CD8+), células T CD4+ y células T reguladoras (Treg).

55

Datos y resultados

Actividades de quinasa enzimática

60 Las actividades de inhibición enzimática de la quinasa a una concentración de ATP 10 μ M se determinaron en biología de reacción. Los resultados de IC₅₀ se resumieron en el cuadro 1.

CUADRO 1

65

Compd #	IC ₅₀ SRC de quinasa enzimática (nM)	IC ₅₀ MET de quinasa enzimática (nM)	IC ₅₀ c-FMS de quinasa enzimática (CSF1R) (nM)
1	ND*	20,4	ND
2 ⁺	3,00	36,5	ND
3 ⁺	97,1	110,0	ND
4 ⁺	0,49	1,85	0,42
5	0,12	0,14	0,76
6	13,6	9,7	ND
7	0,70	2,2	ND
8	0,83	3,8	ND

*ND = no determinado; + = comparativo

Actividades de proliferación anti-celular

- 5 Las actividades de proliferación anti-células contra líneas celulares impulsadas por MET y CSF1R se llevaron a cabo con células MKN-45, SNU-5, Ba/F3 TEL-CSF1R y M-NFS-60 respectivamente. Los resultados de IC₅₀ se resumieron en el cuadro 2 y el cuadro 3.

CUADRO 2

Compd #	IC ₅₀ MKN-45 Proliferación celular MET (nM)	IC ₅₀ SNU-5 Proliferación celular MET (nM)	IC ₅₀ TEL-CSF1R Proliferación celular CSF1R Ba/F3 (nM)
1	193	173,9	180,3
2 ⁺	129	135,9	281,4
3 ⁺	471	674,1	1740
4 ⁺	12	5,8	98,1
5	0,2	0,17	19,3
6	58,3	36,8	187,7
7	17,7	1,0	108,1
8	1,0	1,0	39,0
9	297		
10	0,2		
11	251		

+ = comparativo

CUADRO 3

M-NFS-60 (IC ₅₀ s nM)	CSF-1 (ng/mL)						
		0	0,3	1	3	10	30
Pexidartinib (PLX-3397)	<0,1		2	146,4	212,5	379,7	594,7
Compuesto 5	0,3		3	11,6	78,2	84,1	180,8

15 Compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET y la señalización corriente abajo

- Se evaluó la actividad inhibidora farmacodinámica del Compuesto 5 en MET y la señalización corriente abajo correspondiente en células impulsadas por MET, y los resultados se mostraron en las figuras 1 y 2. El compuesto 5 provocó la supresión de la autofosforilación de MET, así como la fosforilación de STAT3, ERK y AKT corriente abajo en IC₅₀ de alrededor de 1-3 nM en líneas celulares SNU-5 y MKN-45 (Figuras 1 y 2).

Compuesto 5 sinergizado con AZD9291 en células HCC827

- 25 La línea celular de cáncer de pulmón HCC827 tiene delección endógena EGFR exón 19 con sobreexpresión de MET. Sin embargo, el inhibidor de EGFR AZD9291 mostró una IC₅₀ de 5 nM, con una inhibición máxima de Emax 47% en el ensayo de proliferación celular. El inhibidor selectivo de MET capmatinib no es activo en el ensayo de proliferación celular HCC827. La combinación de AZD9291 con capmatinib mostró un efecto similar al AZD9291 solo con una IC₅₀ de 5 nM y Emax 48%. El Compuesto 5 inhibidor dual MET/SRC mostró una IC₅₀ de 3000 nM en el ensayo de proliferación celular HCC827. Se observó una fuerte actividad sinérgica en la combinación de AZD9291 con el Compuesto 5 con una IC₅₀ de 2 nM y Emax 71% en el ensayo de proliferación celular HCC827. Los resultados se resumieron en la figura 3. El compuesto 5 sinergizó con AZD9291 para la apoptosis en la línea celular HCC827 como se muestra en la figura 4.

35 Evaluación de la inhibición de la migración del Compuesto 5

- El compuesto 5 inhibió la migración de células MKN-45 o HCC827 después de 36-48 horas de tratamiento en los ensayos de curación de heridas, mientras que el inhibidor selectivo de MET capmatinib solo inhibió la migración de

células MKN-45 y tiene un efecto mínimo sobre las células HCC827. Los resultados se presentaron en las figuras 5 y 6.

Estudios in vivo

Eficacia antitumoral del compuesto 5 en modelos de tumor de xenoinjerto

La eficacia antitumoral del Compuesto 5 se evaluó en varios modelos de xenoinjerto tumoral que representan poblaciones de cáncer en las que está implicada la desregulación de MET.

Modelo de adenocarcinoma gástrico MKN-45

La amplificación del gen Met en células MKN-45 subyace al mecanismo molecular para el crecimiento tumoral. Los ratones desnudos atípicos que portan tumores MKN-45 (con un tamaño tumoral promedio de 210 mm³) se dosificaron con el compuesto 5 BID por vía oral durante doce días (figura 7). El grupo de control de ratones recibió vehículo solamente. El volumen tumoral (TMV) se midió por calibrador en los días indicados y se muestra a la media ± sem en la figura 7. Los TMV medios son significativamente más bajos en los grupos tratados en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) según lo determinado por ANOVA repetido de dos vías seguido de análisis post hoc. La inhibición del crecimiento tumoral (TGI) se calculó como $100\% \times \{1 - [(TMV_{tratado} \text{ el último día de tratamiento} - TMV_{tratado} \text{ el primer día de tratamiento}) / (TMV_{Control} \text{ el último día de tratamiento} - TMV_{Control} \text{ el primer día de tratamiento})]\}$ cuando $TMV_{Tratado} \text{ el último día de tratamiento} \geq TMV_{Tratado} \text{ el primer día de tratamiento}$. En el caso del $TMV_{Tratado} \text{ el último día de tratamiento} < TMV_{Tratado} \text{ el primer día de tratamiento}$, la regresión tumoral (REG) se calculó como $100\% \times (1 - TMV_{Tratado} \text{ el último día de tratamiento} / TMV_{Tratado} \text{ el primer día de tratamiento})$. En este estudio, el Compuesto 5 demostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral al 47% a la dosis de 3 mg/kg, BID. Cuando se dosificó a 10 mg/kg, BID y 30 mg/kg, BID, el tratamiento del Compuesto 5 resultó en una regresión tumoral del 6% y 44%, respectivamente. El tamaño del tumor se redujo en 5 de 10 ratones tratados con el Compuesto 5 a 10 mg/kg, BID y en 9 de cada 10 ratones tratados con el Compuesto 5 a 30 mg/kg. El peso corporal de los ratones se midió en los días designados de los ratones como se muestra en la figura 8.

Inhibición de la actividad MET en tumores MKN-45 después de la administración oral del Compuesto 5

Para evaluar el efecto del Compuesto 5 sobre la inhibición de la fosforilación de MET, se extrajeron tumores MKN-45 a las 0,5 horas después de una dosis oral del Compuesto 5 a 10 mg/kg. El nivel de fosforilación MET se determinó mediante inmunotransferencia combinada con cuantificación de señal mediante el software Image Studio Digit. El compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET hasta el 16% y el 13% del nivel de control en Tyr-1234 y Tyr-1349, respectivamente (Figura 9). En otro experimento, los tumores se recogieron después de la administración de dosis repetidas a las 4 horas y 12 horas después de la última dosis del Compuesto 5. El nivel de fosforilación de MET en Tyr-1234 se determinó mediante ELISA. El Compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET al 0,2% y 4,0% del nivel de control a las 4 horas y 12 horas después de la última dosis de 10 mg/kg de tratamiento del Compuesto 5; el compuesto 5 inhibió la fosforilación de MET al 12,7% y al 33,1% del nivel de control a las 4 horas y 12 horas después de la última dosis de 10 mg/kg de tratamiento con el compuesto 5 (figura 10).

Modelo de NSCLC de xenoinjerto derivado de paciente LU2503 (PDX)

El LU2503 es un modelo PDX derivado de un paciente con NSCLC y que alberga la amplificación génica y la mutación de omisión del exón 14 del gen *Met*. El tratamiento de ratones con tumores LU2503 con el Compuesto 5 a 15 mg/kg, BID durante 13 días resultó en una regresión tumoral del 85%, mientras que los tumores crecieron de 189 mm³ a 2032 mm³ en el grupo tratado con vehículo (Figura 11). No se observó pérdida de peso corporal después de 21 días de tratamiento BID con el Compuesto 5 a 15 mg/kg (Figura 12).

Inhibición del crecimiento de tumores Ba/F3 ETV6-CSF1R

En el modelo de tumor de xenoinjerto de Ba/F3 ETV6-CSF1R, el crecimiento del tumor es presumiblemente dependiente de la actividad exópica CSF1R. Los ratones SCID/Beige con tumores Ba/F3 ETV6-CSF1R con un tamaño tumoral promedio de ~180 mm³) se dosificaron con el Compuesto 5 por vía oral BID durante 10 días (Figura 13). El grupo de control de ratones recibió vehículo solamente. El volumen tumoral (TMV) se midió por calibrador en los días indicados y se muestra a la media ± sem en la figura 12. Los TMV medios son significativamente más bajos en los grupos tratados en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) según lo determinado por ANOVA repetido de dos vías seguido de análisis post hoc. El compuesto 5 demostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral al 44% y al 67% en la dosis de 5 mg/kg, BID y 15 mg/kg, BID, respectivamente. El peso corporal de los ratones se midió en los días designados de los ratones como se muestra en la figura 14.

La evaluación del marcador PD del Compuesto 5 en el modelo de tumor de ratón singeneico MC38 subcutáneo

Los efectos antitumorales del Compuesto 5 sobre los tumores singénicos MC38 se analizaron por volumen tumoral. El volumen tumoral promedio del grupo de control del vehículo (G1) en el día 7 fue $696,3 \pm 299,7$, mientras que el

grupo tratado con Compuesto 5 (G2) fue $473,5 \pm 170,4 \text{ mm}^3$. El día 11, el volumen tumoral promedio de G1 y G2 fue $1142,6 \pm 290,0$ y $610,4 \pm 151,8 \text{ mm}^3$, respectivamente. El día 11, el volumen del tumor mostró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamiento con $p < 0,006$, mientras que la diferencia no fue estadísticamente significativa el día 7. El cambio porcentual del volumen del tumor se muestra en la figura 15. No se observó pérdida de peso corporal ni anormalidad manifiesta en ratones tratados con el Compuesto 5 a 15 mg/kg BID durante 7 u 11 días, como se muestra en la Figura 16.

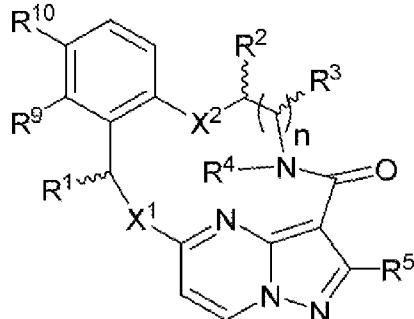
El análisis FACS de tumores se realizó el día 7 y el día 11 para las células inmunes asociadas a tumores que incluyen los macrófagos asociados a tumores (TAM) y los subtipos TAM (M1 y M2), células de supresión derivadas de mieloides (MDSC), linfocitos T citotóxicos (CTL, es decir, células T CD8+), células T CD4+ y células T reguladoras (Treg). Los datos se muestran en las Figuras 17 y 18. El día 7, no hubo cambios estadísticamente significativos en las poblaciones de células T TAM, M1, M2, MDSC, CTL, CD4+ o Treg en leucocitos asociados a tumores (poblaciones CD45+) entre el control y grupos tratados con Compuesto 5, aunque existe una tendencia a una reducción en las células TAM en ratones tratados con Compuesto 5. Sin embargo, el día 11, se observó una disminución estadísticamente significativa de TAM en la población total de leucocitos tumorales en el grupo tratado con el Compuesto 5 en comparación con el grupo de control, con un aumento concurrente en las poblaciones de MDSC. Un análisis adicional de la subpoblación de TAM reveló un aumento en M1 TAM y una disminución en M2 TAM en la población total de leucocitos tumorales en tumores en el grupo tratado con el Compuesto 5 en comparación con el grupo de control. Al mismo tiempo, una tendencia de aumento de células CTL en la población total de leucocitos tumorales y un aumento estadísticamente significativo de CTL en la población de linfocitos CD3+ se observó en el grupo tratado con el Compuesto 5 en comparación con el grupo de control, sin que se encontraran cambios estadísticamente significativos en las células T CD4+ o células Treg.

Estudio de eficacia de combinación in vivo del Compuesto 5 con anticuerpo PD-1 en modelo singeneico MC38

Los efectos antitumorales del Compuesto 5 combinado con el anticuerpo PD-1 sobre los tumores singénicos de MC38 se analizaron por volumen tumoral. El volumen tumoral promedio del grupo de control del vehículo (G1) en el día 20 fue $1938,58 \pm 729,41$, el grupo tratado con el Compuesto 5 (G2) fue $1220,03 \pm 521,39 \text{ mm}^3$, el grupo de tratamiento con anticuerpos PD-1 fue $821,24 \pm 767,16$, y el Compuesto 5 más el tratamiento con anticuerpo PD-1 fue de $515,63 \pm 350,47$. El día 20, se observó una sinergia antitumoral en comparación con el grupo de combinación con los grupos del Compuesto 5 o el anticuerpo PD-1 tratado solo. No se observó pérdida de peso corporal ni anormalidad manifiesta en ratones tratados con el Compuesto 5 y/o anticuerpo PD-1. Los datos se muestran en las Figuras 19 y 20.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula I



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

X^1 y X^2 son independientemente $-CR^6R^7-$, S , $S(O)$, $S(O)_2$, O o $N(R^8)$;

10 R¹ es H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₃-C₁₀, -C(O)OR⁸ o -C(O)NR⁸R⁹, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido con deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O-alquilo C₁-C₆, -NHS(O)(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S-alquilo C₁-C₆, -S(O)-alquilo C₁-C₆, -S(O)₂-alquilo C₁-C₆, -S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -P(alquilo C₁-C₆)₂, -P(O)(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros; cada R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, C(O)OR⁸ o C(O)NR⁸R⁹; en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O-alquilo C₁-C₆, -NHS(O)(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S-alquilo C₁-C₆, -S(O)-alquilo C₁-C₆, -S(O)₂-alquilo C₁-C₆, -S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -P(alquilo C₁-C₆)₂, -P(O)(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros; o R² y R³ tomados junto con los átomos de carbono a los que están unidos forman opcionalmente un cicloalquilo C₅-C₇ o un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros; o R² y R⁴ tomados junto con los átomos a los que están unidos forman opcionalmente un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros:

R⁴ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido con halógeno, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo monocíclico de 5 a 7 miembros:

MIEMBROS,
 R^5 es $-NR^6R^7$;

cada R⁶, R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆; en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, fluoro, cloro, bromo, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, NH(alquilo C₁-C₆), N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₇, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 a 7 miembros, -CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂;

R⁹ es H, fluoro, cloro, bromo, -CN, -CF₃, -CO₂H, C(O)O-alquilo C₁-C₆, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) y

C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂;
R¹⁰ es H, fluoro, cloro o bromo; y
n es 1 o 2.

- 5 2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R⁹ es -CN.

10 3. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R¹⁰ es F.

15 4. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R⁶ y R⁷ son H.

15 5. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque X¹ es N(R⁸).

20 6. El compuesto de conformidad con la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R⁸ es alquilo C₁-C₆, en donde cada átomo de hidrógeno está independientemente opcionalmente sustituido con fluoro, cloro, bromo, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₇, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo de 5 a 7 miembros, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂.

25 7. El compuesto de conformidad con la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R⁸ es etilo, propilo, iso-propilo o metilciclopropilo.

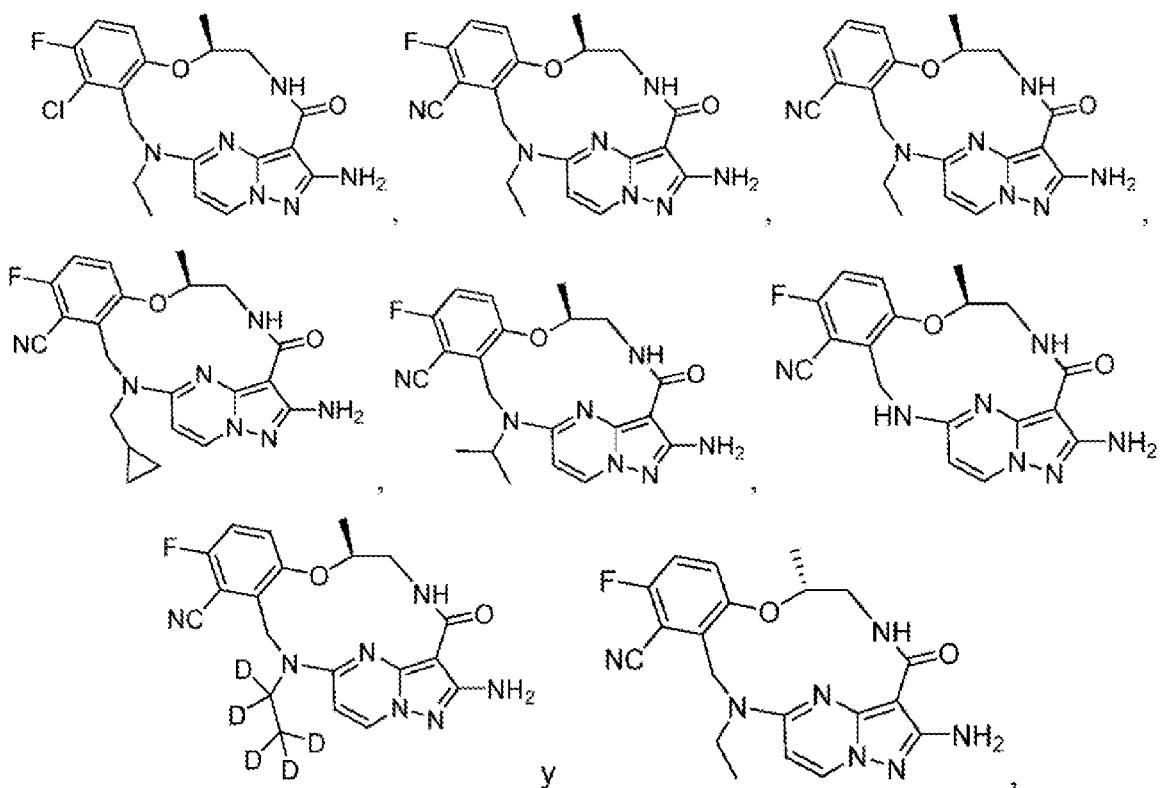
25 8. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque X² es O.

30 9. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R² es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ están independientemente opcionalmente sustituidos por deuterio, halógeno, OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O-alquilo C₁-C₆, -NHS(O)(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S-alquilo C₁-C₆, -S(O)-alquilo C₁-C₆, -S(O)₂-alquilo C₁-C₆, -S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -P(alquilo C₁-C₆)₂, -P(O)(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, y R³ es H.

45 10. El compuesto de conformidad con la reivindicación 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R² es alquilo C₁-C₆, o en donde R² es metilo.

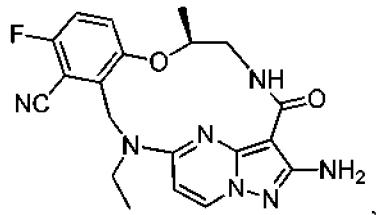
50 11. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque R² es H, y R³ es H, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸, en donde cada átomo de hidrógeno en alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido con deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH-alquilo C₁-C₆, N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH-alquilo C₁-C₆, -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O-alquilo C₁-C₆, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O-alquilo C₁-C₆, -NHS(O)(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, -NHS(O)₂NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquilo C₁-C₆), -NHS(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHS(O)O-N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)NH(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)S(O)₂NH(alquilo C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O-alquilo C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S-alquilo C₁-C₆, -S(O)-alquilo C₁-C₆, -S(O)₂-alquilo C₁-C₆, -S(O)NH(alquilo C₁-C₆), -S(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -P(alquilo C₁-C₆)₂, -P(O)(alquilo C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆, o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, o en donde R² e R³ son H.

55 12. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en



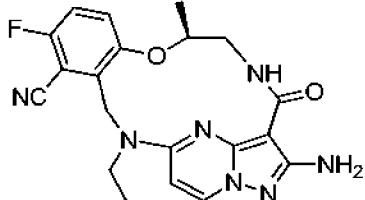
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 13. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, con la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, con la estructura:



10

15. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos uno o más de un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

16. El compuesto de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para uso en el tratamiento del cáncer en un paciente.

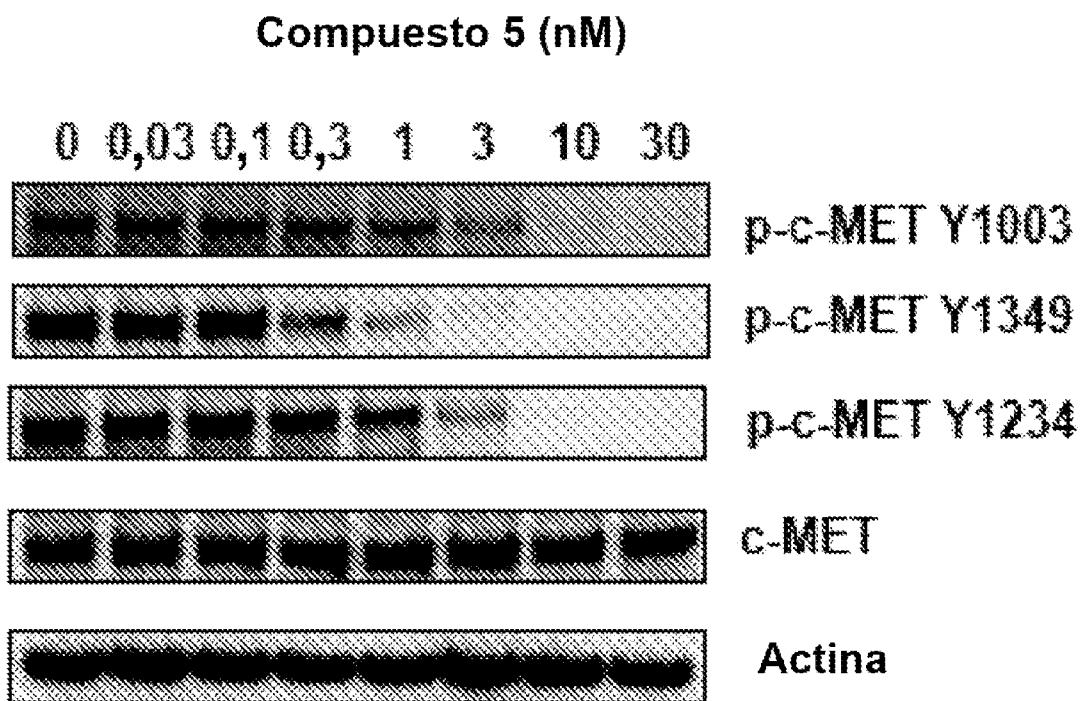


FIG. 1

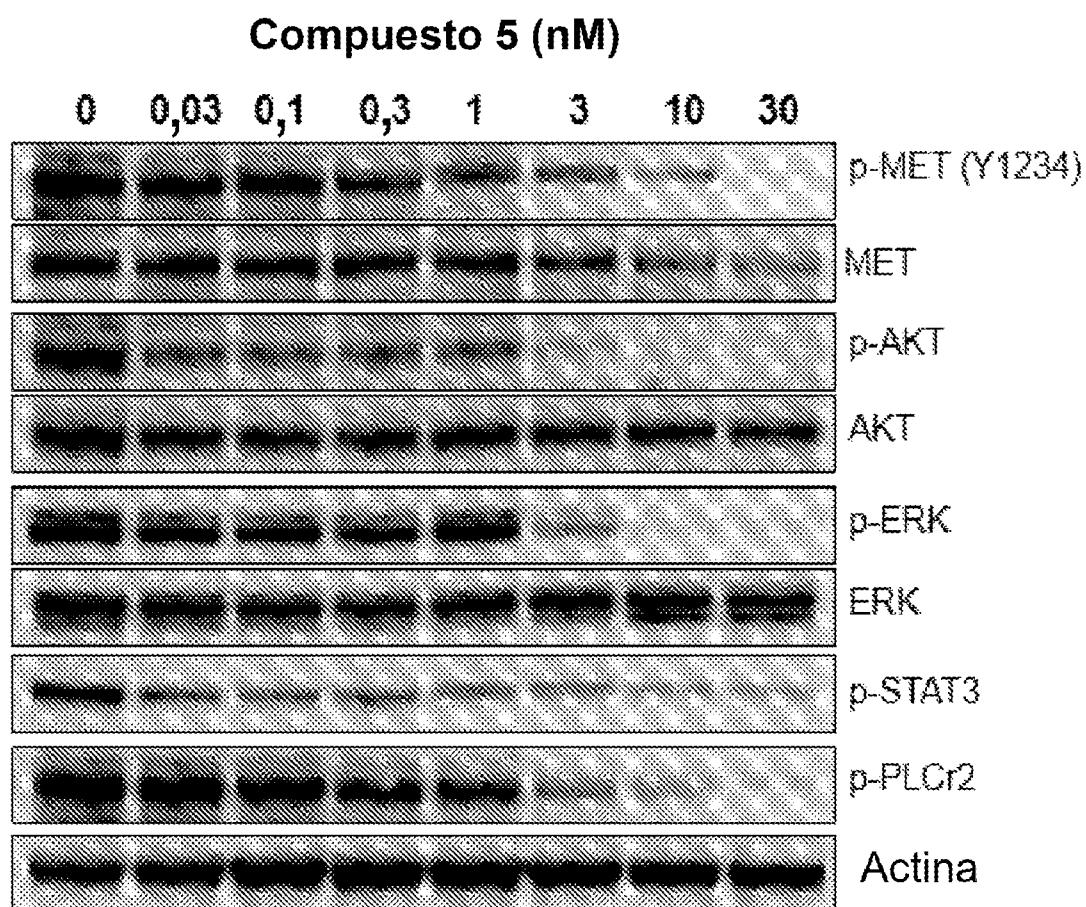


FIG. 2

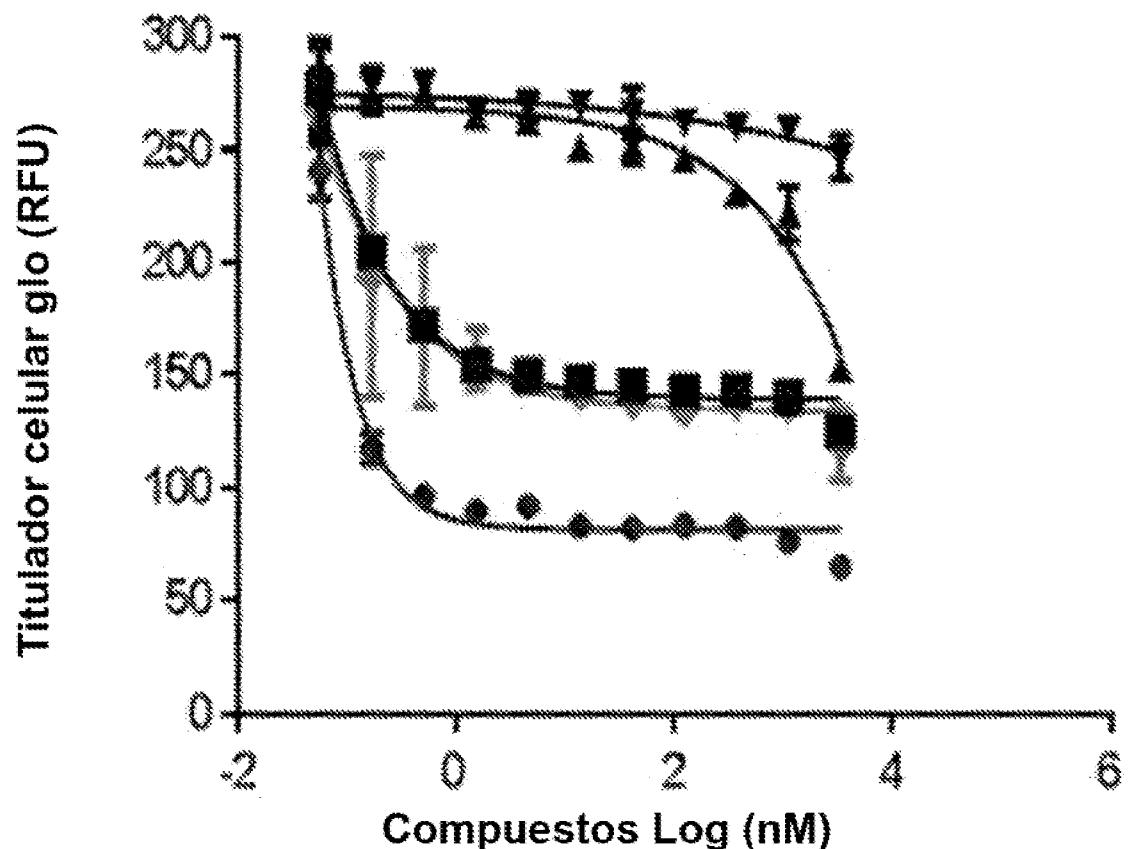


FIG. 3

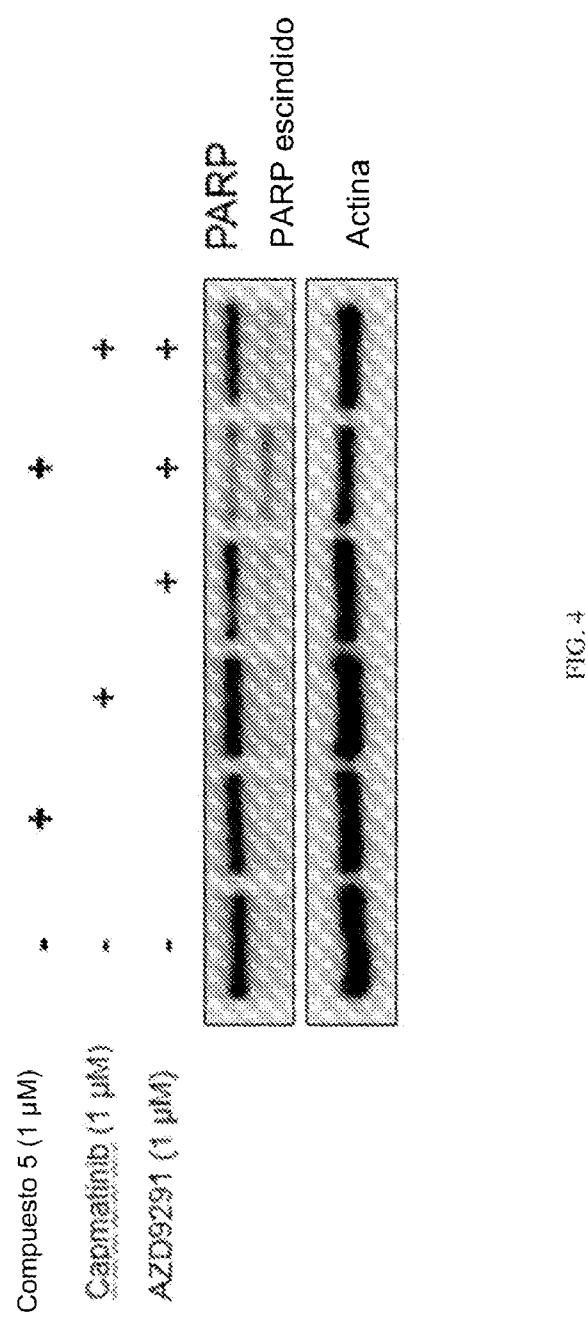


FIG. 4

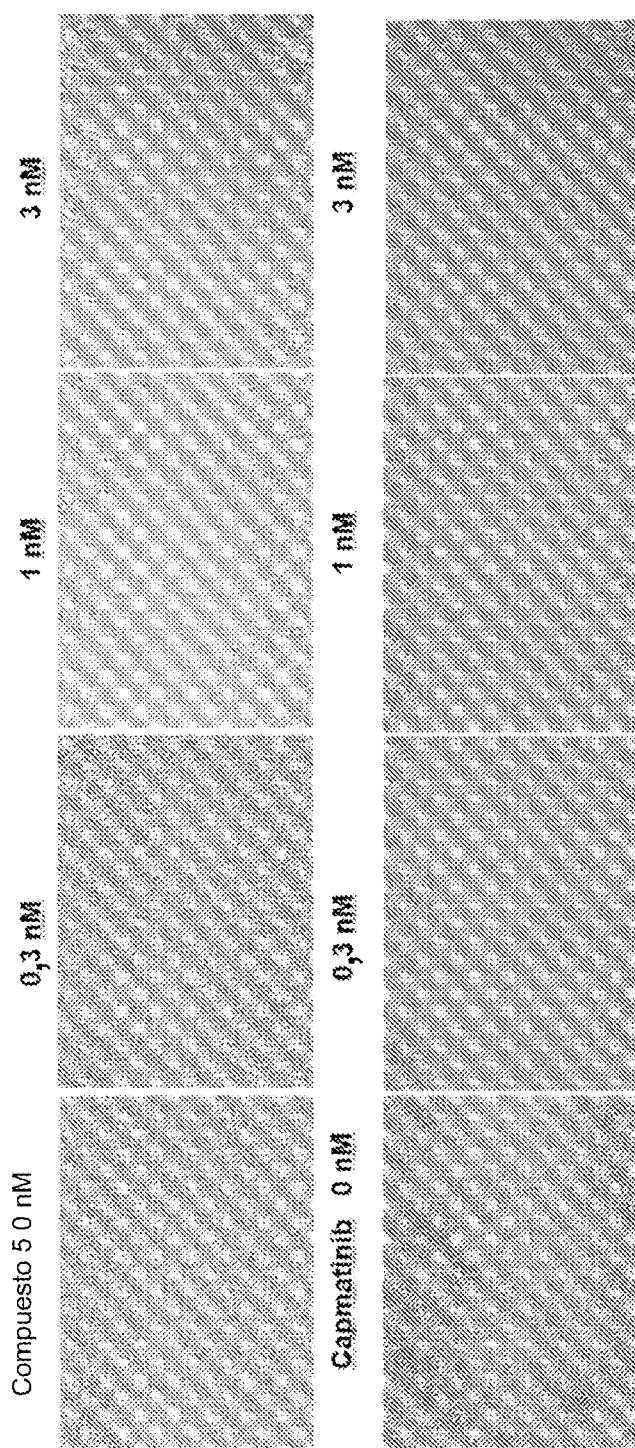


FIG. 5.

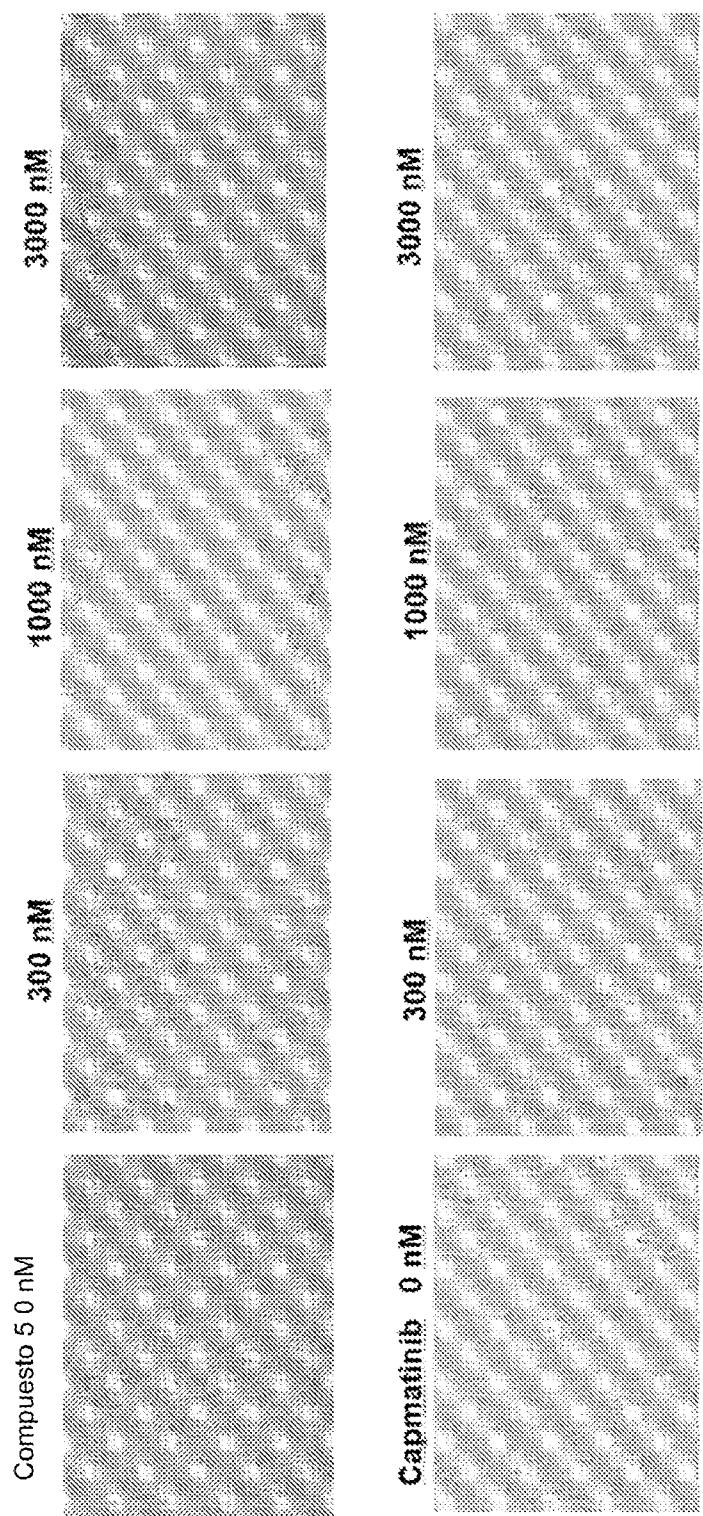


FIG. 6

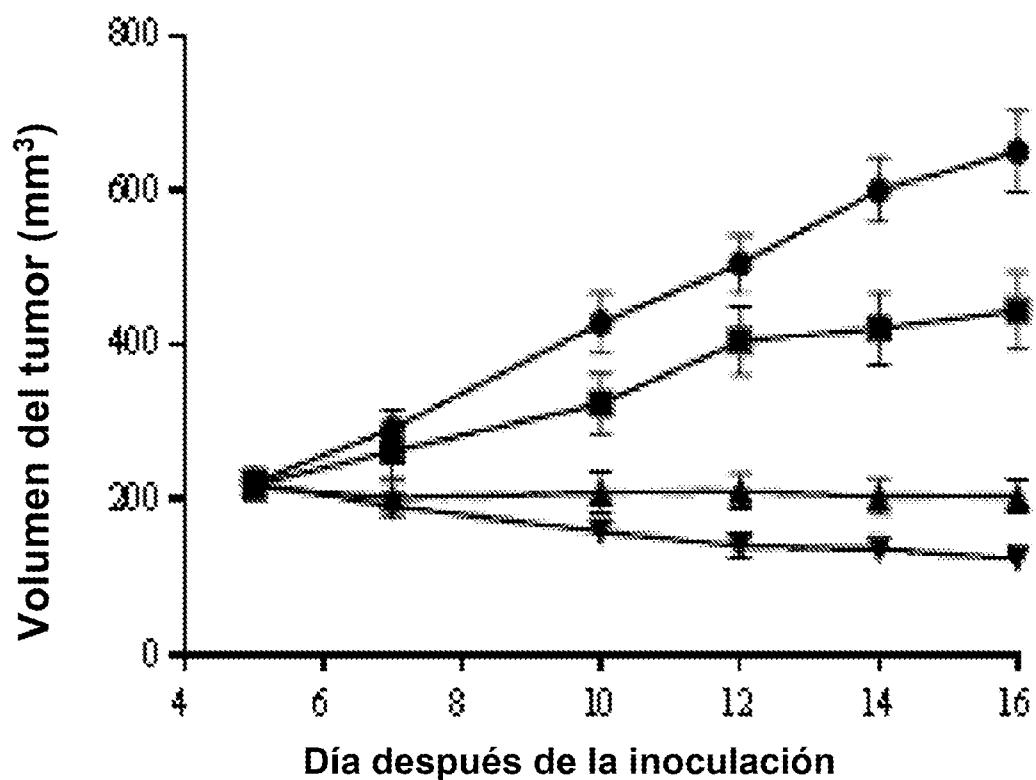
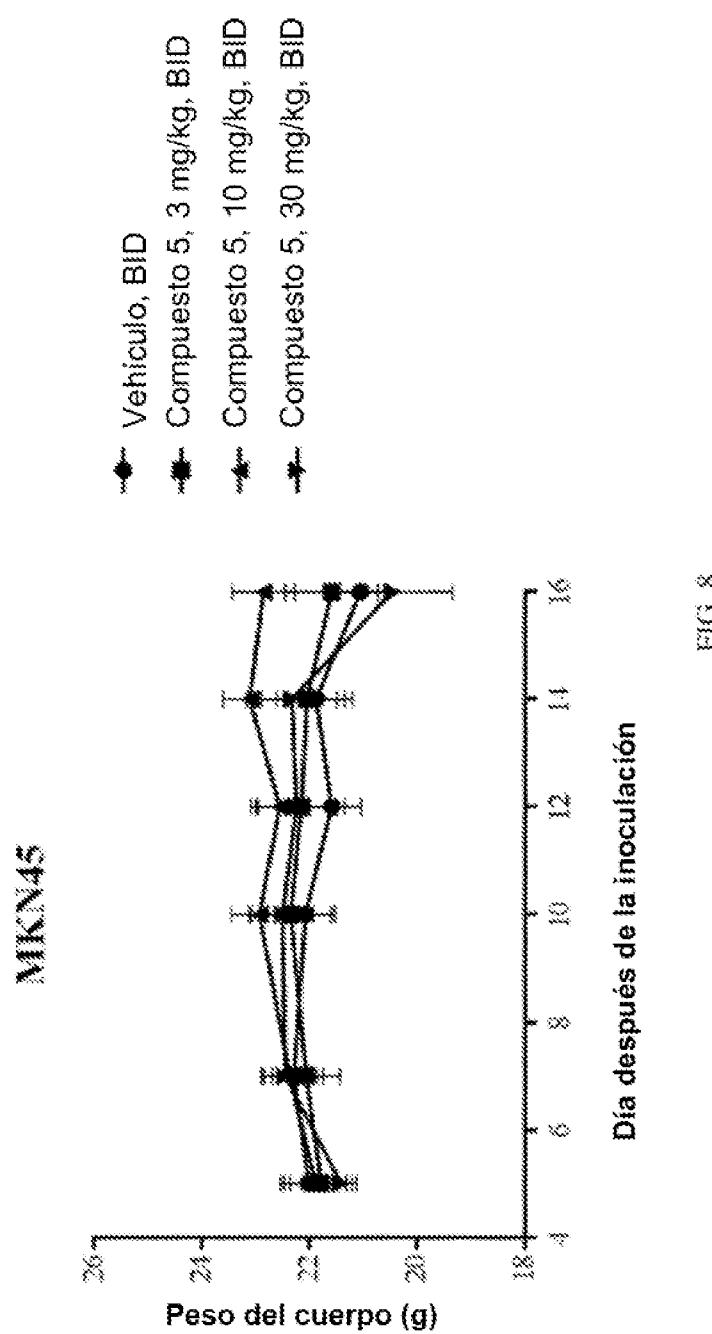


FIG. 7



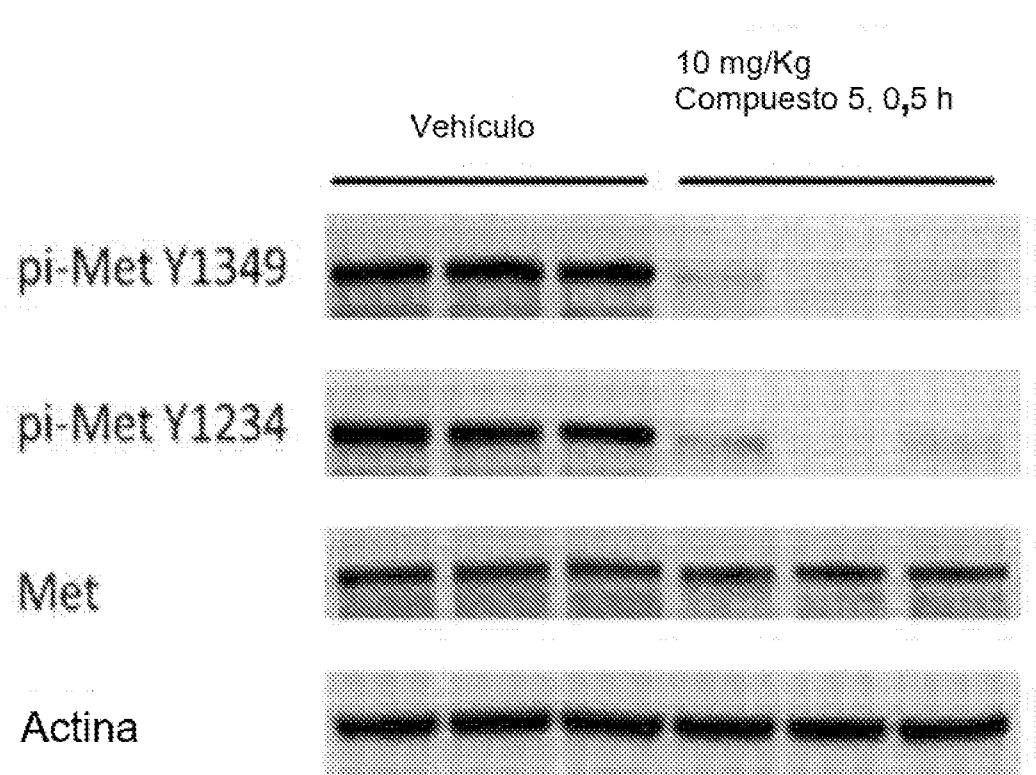
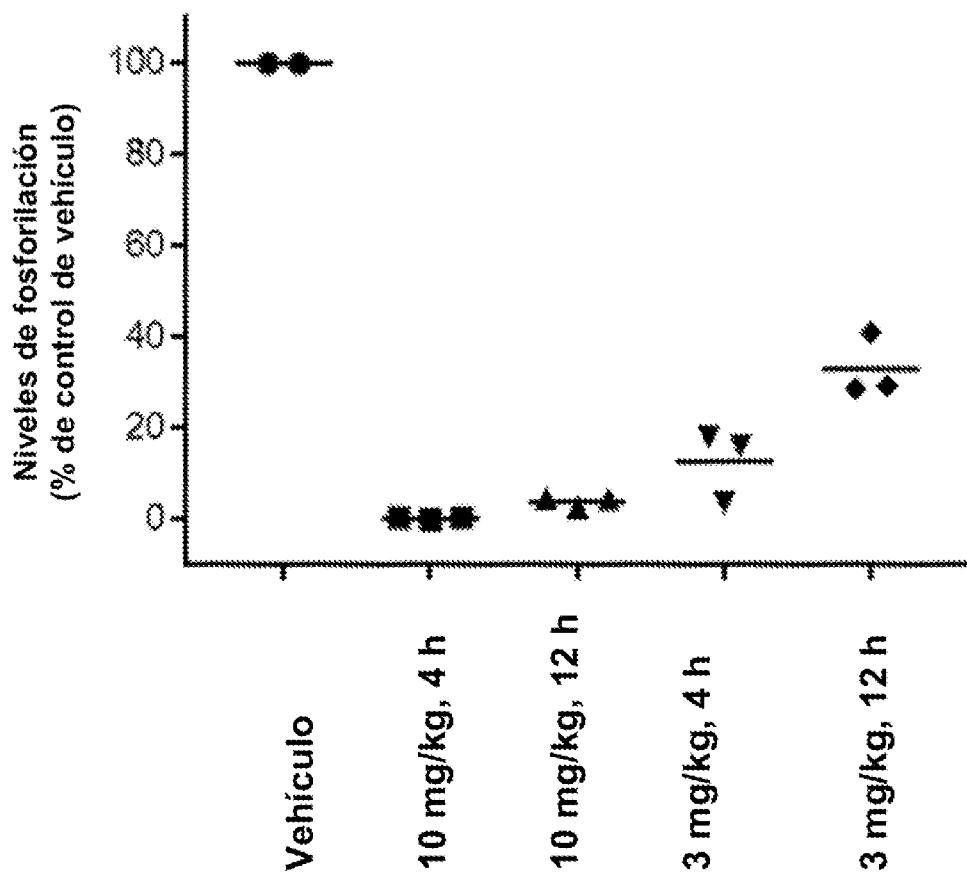
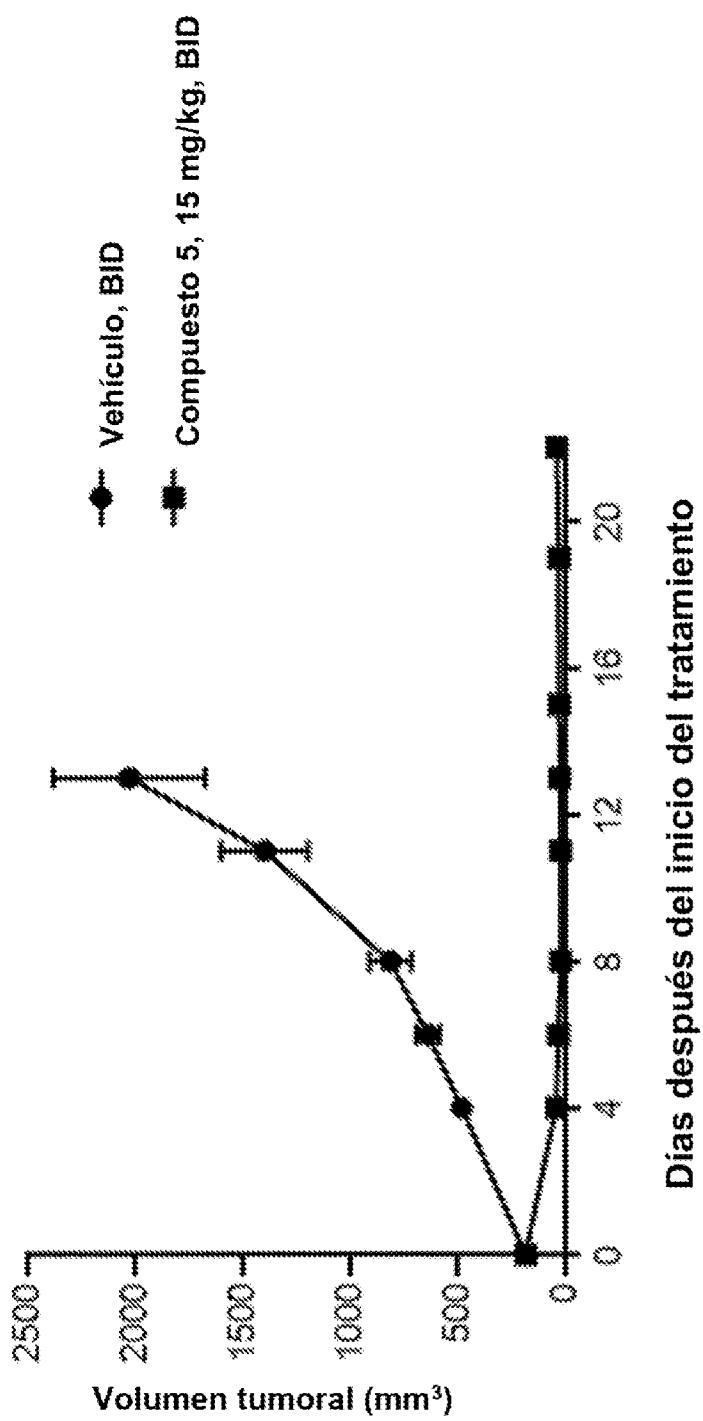


FIG. 9

**Efecto del compuesto 5 en la fosforilación de Met Y123
en tumores MKN-45**



Actividad anti-tumoral del compuesto 5 en
tumores LU2503 PDX



Días después del inicio del tratamiento

FIG.11

**Pesos corporales de ratones que portan los tumores LU2503
PDX tratados con el compuesto 5**

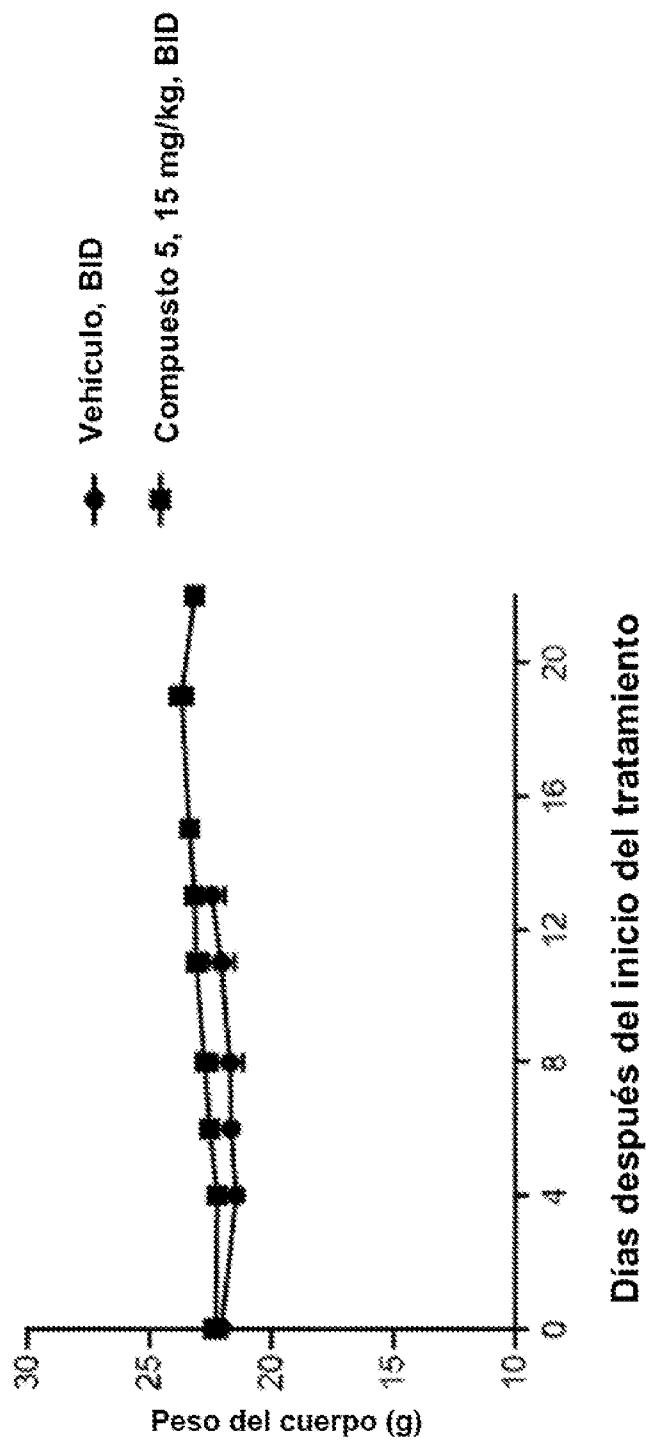


FIG. 12

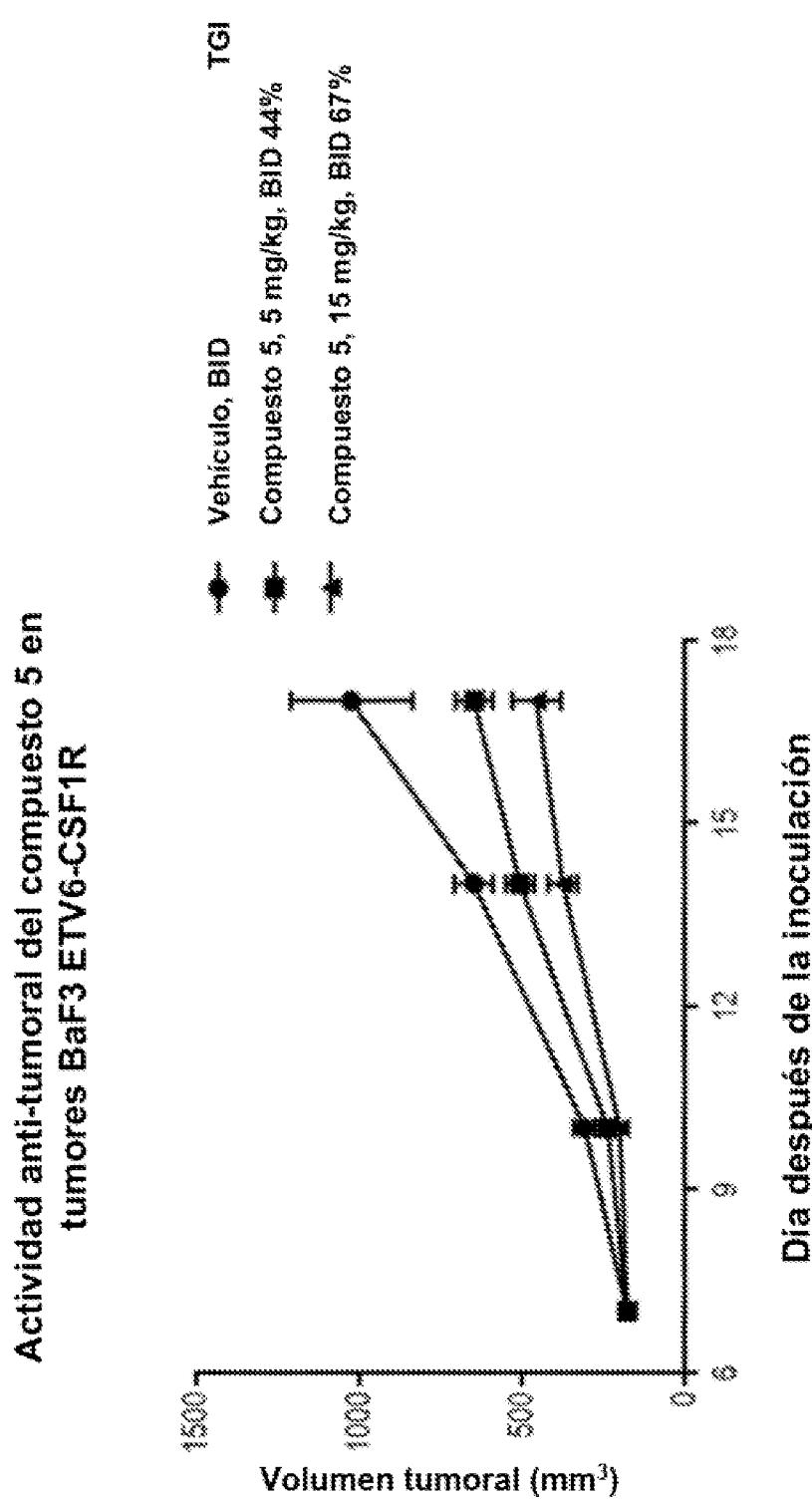


FIG. 13

El cambio de los pesos corporales en el compuesto 5 de los ratones tratados que portan los tumores BaF3 ETV-CSF1R

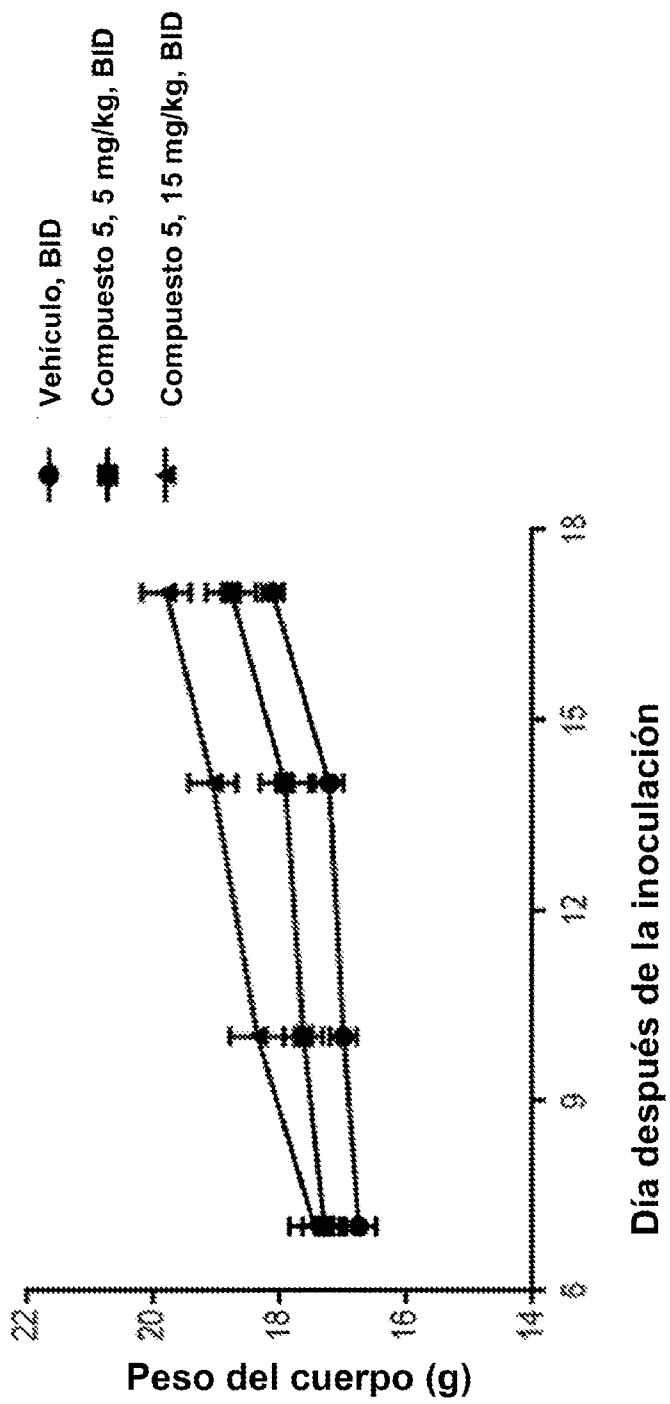


FIG. 14

Actividad anti-tumoral del compuesto 5 en el modelo de tumor de rata
singeneico MC38

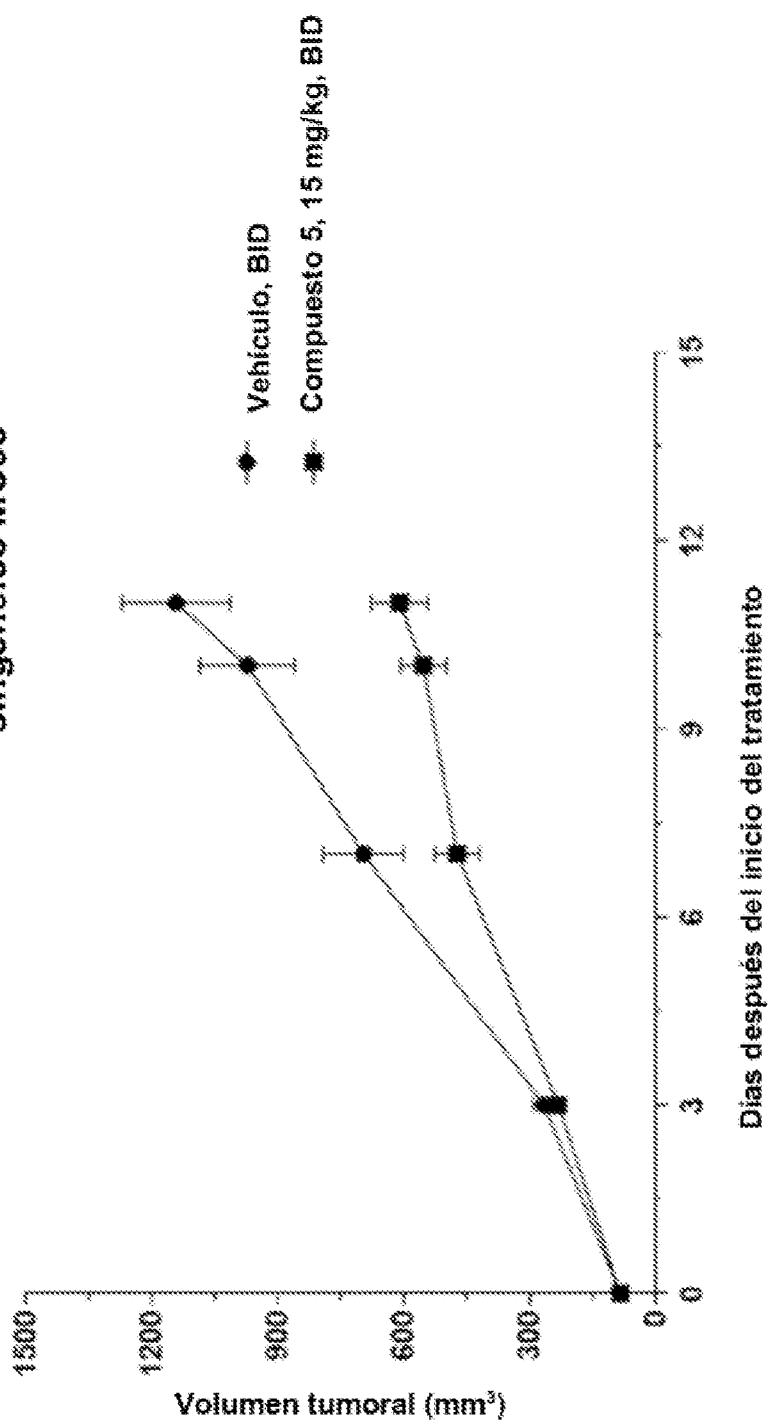


FIG. 15

Cambios del peso corporal en ratones tratados con el compuesto 5 que portan tumores singenéticos MC38

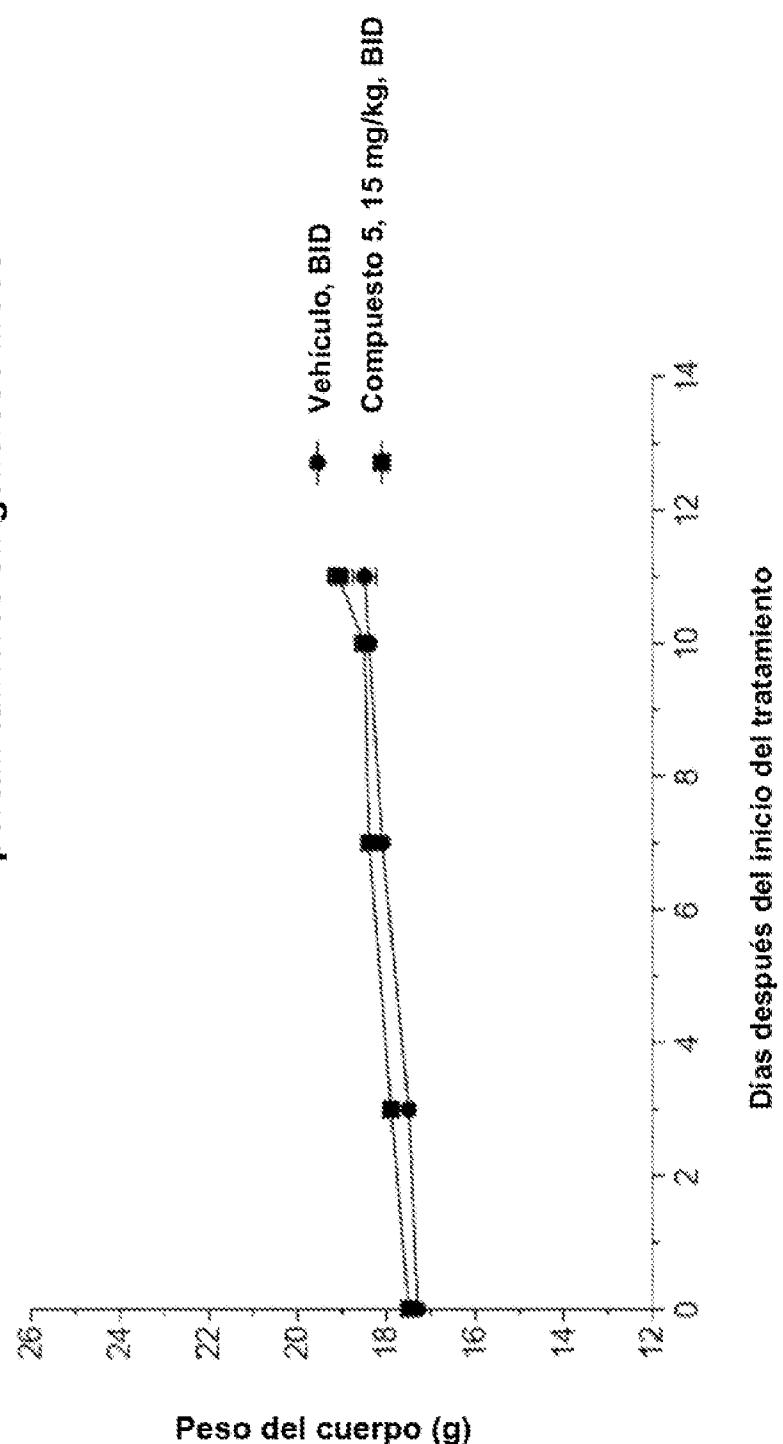


FIG. 16

Análisis FACS de muestras tumorales de cada grupo después del día 7 del tratamiento

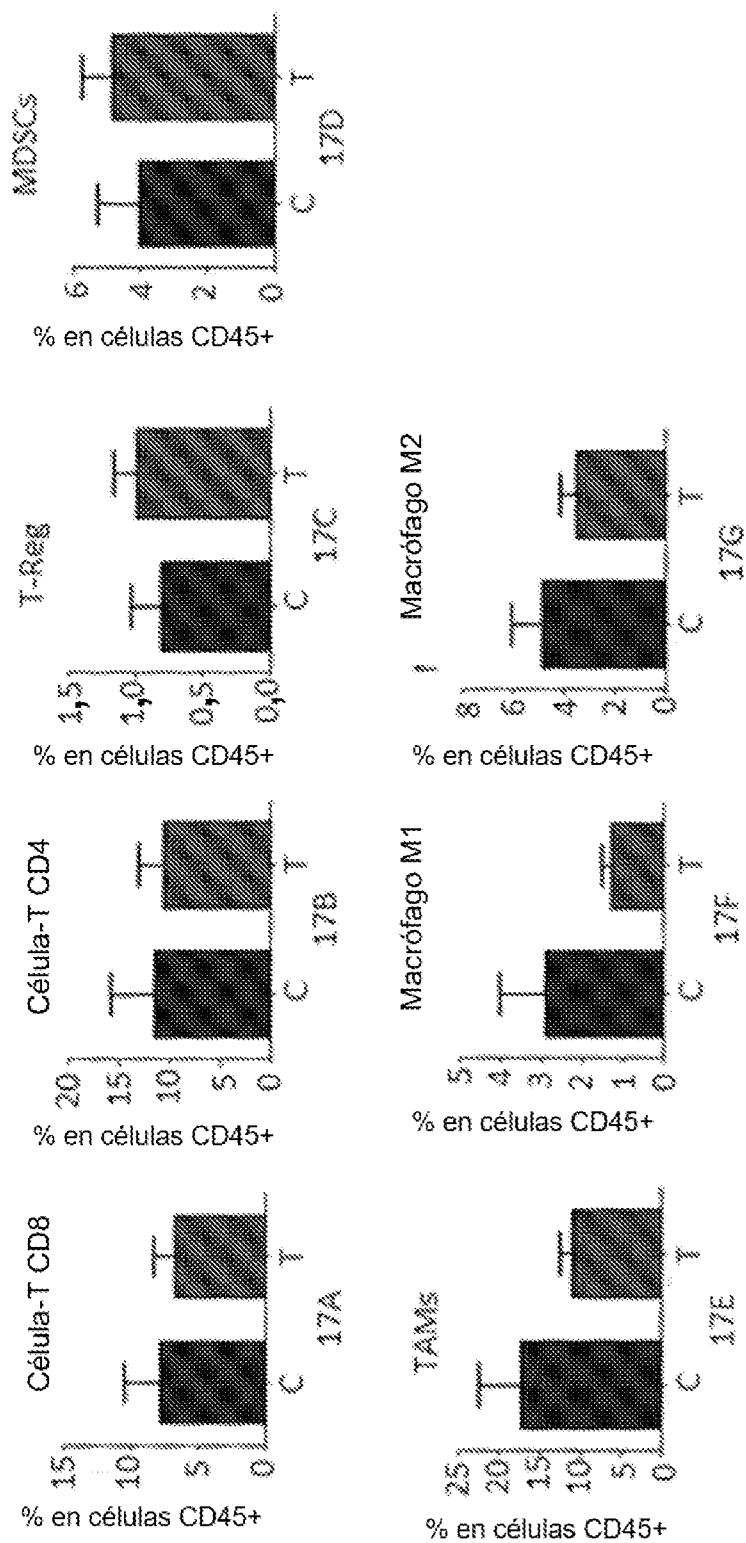


FIG. 17

Análisis FACS de muestras tumorales de cada grupo después del día 11 del tratamiento

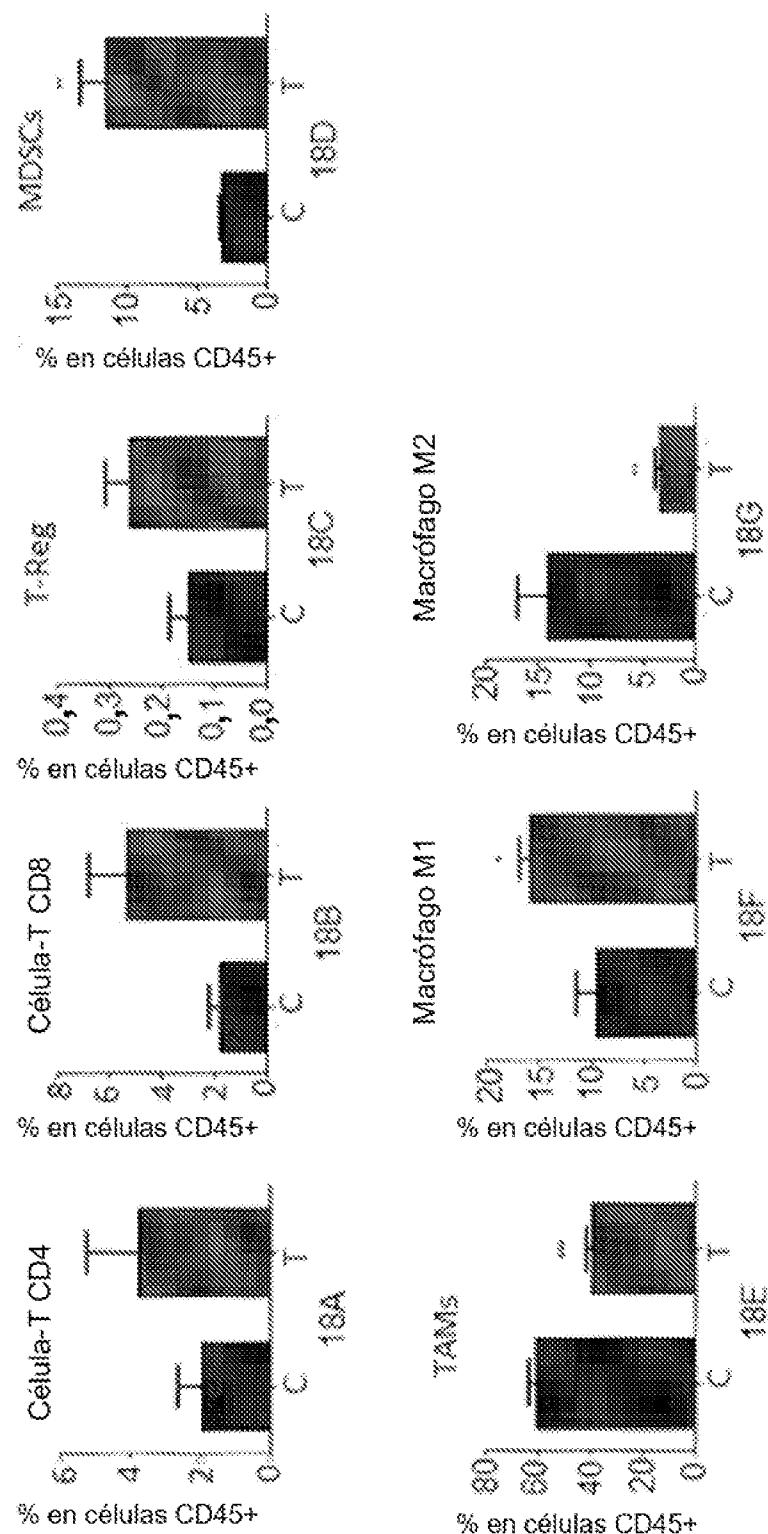


FIG. 18

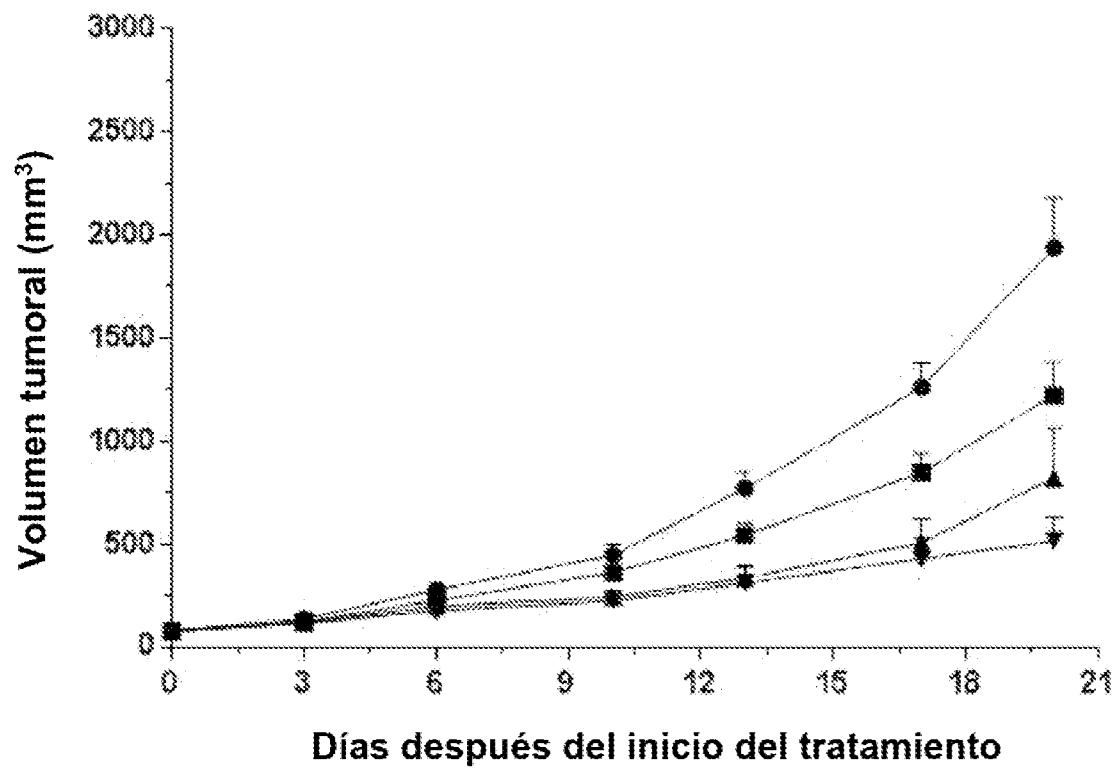


FIG. 19

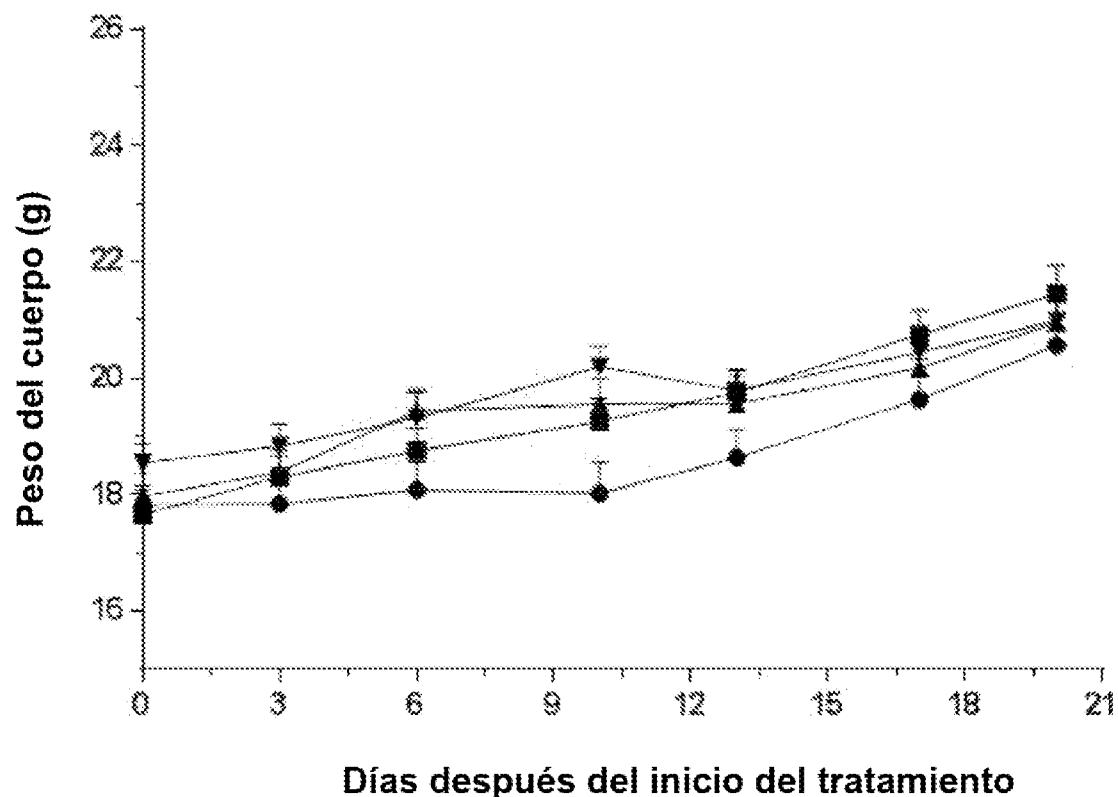


FIG. 20