

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 979 111**

51 Int. Cl.:

C07D 491/16 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
C07D 491/12 (2006.01)
C07D 491/18 (2006.01)
C07D 498/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.07.2016 PCT/US2016/040972**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.01.2017 WO17007759**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2016 E 16821872 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2024 EP 3319969**

54 Título: **Polimorfo de macrociclo de diarilo**

30 Prioridad:

06.07.2015 US 201562188846 P
15.09.2015 US 201562218672 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.09.2024

73 Titular/es:

TURNING POINT THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
3580 Carmel Mountain Road
San Diego, CA 92130, US

72 Inventor/es:

CUI, JINGRONG J. y
ROGERS, EVAN W.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 979 111 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

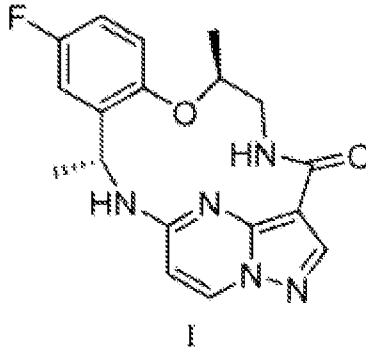
Polimorfo de macrociclo de diarilo

5 **Campo técnico**

Esta divulgación se refiere a los polimorfos de (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazaclotridecin-4(5*H*)-ona que son útiles en el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer, en mamíferos. Esta divulgación también se refiere a composiciones que incluyen estos polimorfos y a métodos para usar dichas composiciones en el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer, en mamíferos, especialmente en seres humanos.

Antecedentes

15 El compuesto (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazaclotridecin-4(5*H*)-ona (también denominado en el presente documento "Compuesto I") representado por la fórmula I



20 es un potente inhibidor de quinasas multiobjetivo de molécula pequeña que muestra actividad contra ALK de tipo silvestre y mutante (quinasa del linfoma anaplásico), ROS1 de tipo silvestre y mutante (ROS1 receptor tirosina quinasa proto-oncogénico), la familia TRK de quinasas (receptores tirosina quinasas relacionados con tropomiosina), JAK2 de la familia Janus de quinasas, SRC (familia Src de proteínas tirosina quinasas (SFK)) y FAK (quinasa de adhesión focal). El compuesto I tiene propiedades, incluyendo propiedades antitumorales, que son farmacológicamente
25 mediadas a través de la inhibición de los receptores de tirosina quinasa. El compuesto I se divulga en la solicitud de patente internacional n.º PCT/US2015/012597.

30 Las proteínas quinasas son reguladores clave para el crecimiento, proliferación y supervivencia celular. Una variedad de enfermedades, tales como cáncer, dolor, enfermedades neurológicas, enfermedades autoinmunitarias e inflamación, han demostrado estar mediadas por receptores tirosina quinasas, tales como ALK, ROS1, TRK, JAK2, SRC y FAK. Por ejemplo, en las células cancerosas pueden acumularse alteraciones genéticas y epigenéticas que conducen a la activación anormal de vías de transducción de señales que conducen a procesos malignos. Manning, G. *et al.*, *Science* 2002, 298, 1912-1934. La inhibición farmacológica de estas vías de señalización presenta
35 oportunidades de intervención prometedoras para terapias dirigidas contra el cáncer. Sawyers, C., *Nature* 2004, 432, 294-297.

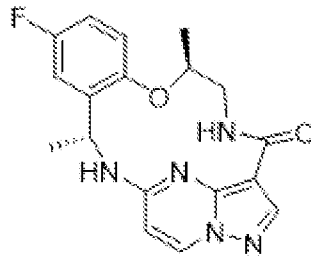
Mientras que el Compuesto I ha encontrado aplicación en el tratamiento de enfermedades asociadas con receptores tirosina quinasas, tales como ALK, ROS1, TRK, JAK2, SRC y FAK, es ventajoso tener formas polimórficas que tengan
40 propiedades mejoradas, tales como cristalinidad y propiedades de disolución mejoradas y/o menor higroscopicidad, mientras que se mantienen las propiedades de estabilidad química y enantiomérica.

Sumario

45 En un aspecto, la presente divulgación proporciona una forma cristalina de (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxa-triazaclotridecin-4(5*H*)-ona.

En otra realización, la forma de polimorfo cristalino de (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxa-triazaclotridecin-4(5*H*)-ona es anhidra.

50 En otra realización, la forma de polimorfo cristalino 1 del compuesto I puede representarse por la fórmula



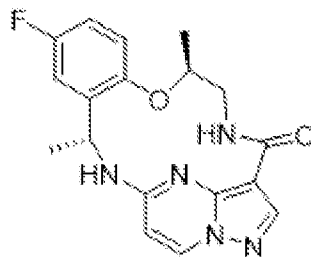
I.

5 En una realización más, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende un pico en un ángulo de difracción (2θ) de $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, y $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$. En una realización posterior, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $21,2\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$.

20 En un aspecto más, la forma cristalina tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) esencialmente iguales a los mostrados en la Figura 1.

25 En otro aspecto, la forma de polimorfo cristalino tiene un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con un punto de fusión de aproximadamente $345,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, y opcionalmente el termograma DSC es como se muestra en la Figura 2.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma de polimorfo 1 del Compuesto I de la fórmula



I.

35 La presente divulgación también proporciona una cápsula que comprende composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento.

40 Las referencias a métodos de tratamiento en la presente descripción deben interpretarse como referencias a compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico). En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de la enfermedad, especialmente cáncer, en un mamífero, incluyendo un ser humano, comprendiendo el método administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma de polimorfo 1 de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacyclodecine-4(5H)-ona, como se describe en el presente documento, o una composición farmacéutica que comprende la forma de polimorfo 1 de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacyclodecine-4(5H)-ona, como se describe en el presente documento.

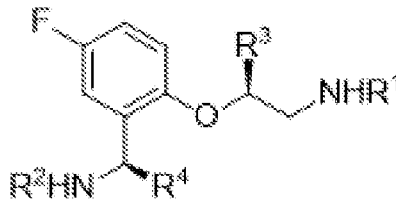
45 En una realización, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del crecimiento anormal de células en un mamífero, incluyendo un ser humano, en necesidad de este tratamiento, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma de polimorfo de la base libre 1 del Compuesto I. En otra

realización, el crecimiento anormal de células está mediado por al menos una tirosina quinasa genéticamente alterada.

En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por ALK, ROS1, TRK, JAK2, SRC, FAK o una combinación de las mismas. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante ALK. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante ROS1. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante TRK. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante JAK2. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante SRC. En otra realización, el crecimiento anormal de células está mediado por el tipo silvestre del mutante FAK.

En otra realización, el crecimiento celular anormal es cáncer. En otra realización, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, carcinoma hepatocelular, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, cánceres gástrico y esófago-gástrico, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfomas linfocíticos, tales como linfoma anaplásico de células grandes, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), glioblastoma, linfoma del SNC primario, tumores del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, tumores miofibroblásticos inflamatorios y combinaciones de los mismos.

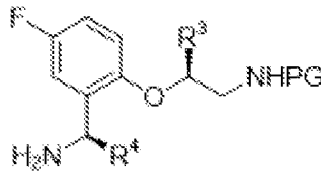
En otro aspecto, la divulgación proporciona un compuesto de la fórmula II



II

en donde R¹ y R² son H o PG cada uno de manera independiente, en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente.

En otro aspecto, la divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula B



B

Otras realizaciones, características y ventajas adicionales de la divulgación se desprenden de la siguiente descripción detallada y a través de la práctica de la divulgación. Los compuestos de la presente descripción se pueden describir como realizaciones en cualquiera de las siguientes. Se entenderá que cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento puede utilizarse en relación con cualquier otra realización descrita en la medida en que las realizaciones no se contradigan entre sí.

La presente invención proporciona una forma de polimorfo cristalino de la base libre de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5H)-ona.

Preferiblemente, la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende un pico en un ángulo de difracción (2θ) de 27,4±0,1; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de 9,4±0,1 y 27,4±0,1; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

5 un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

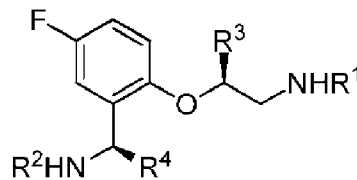
10 un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $21,2\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$.

También se proporciona una forma de polimorfo cristalino de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecín-4(5H)-ona que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente igual al mostrado en la Figura. 1.

15 Preferiblemente, en la forma de polimorfo cristalino de la invención, el termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) tiene un punto de fusión de aproximadamente $345,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, opcionalmente en donde el termograma DSC es como se muestra en la Figura 2.

20 También se proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma de polimorfo cristalino de acuerdo con la invención.

También se proporciona un compuesto de la fórmula II



II

25 en donde R^1 y R^2 son cada uno de manera independiente H o PG, en donde PG se selecciona del grupo que consiste en Fmoc, Boc, Cbz, CA, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, y R^3 y R^4 son alquilo C_1 - C_4 cada uno de manera independiente.

30 Preferiblemente, R^1 y R^2 son PG.

También se prefiere que R^2 sea H.

35 También se prefiere adicionalmente que R^1 sea H.

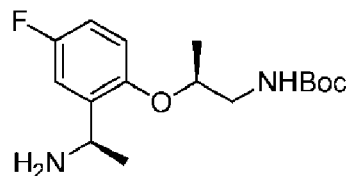
También se prefiere que R^1 sea PG.

Se prefiere además que R^2 sea PG.

40 Preferiblemente, R^3 y R^4 son metilo.

También se prefiere que PG sea Boc.

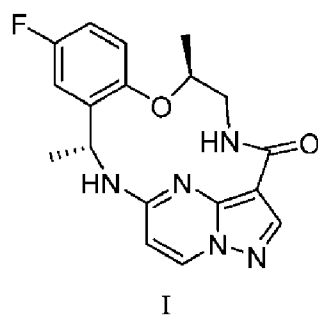
45 También se proporciona un compuesto de la fórmula B-14



B-14.

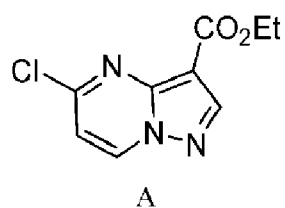
Se proporciona adicionalmente un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I

50

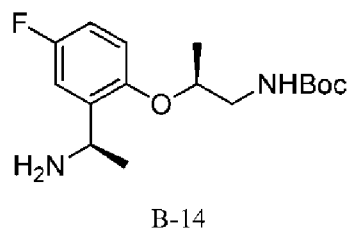


que comprende

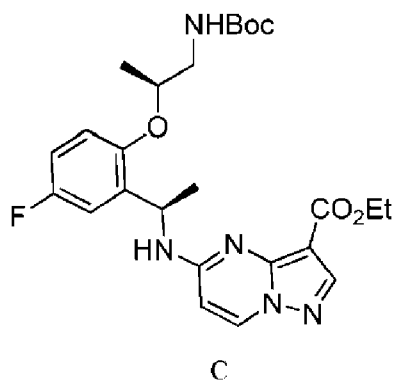
- 5 a. poner en contacto un compuesto de la fórmula A



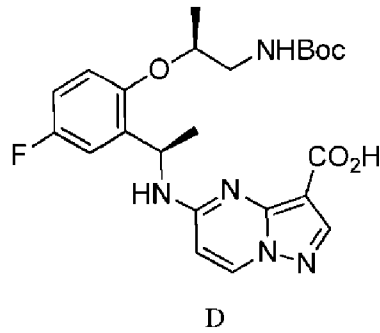
- 10 con un compuesto de la fórmula B-14



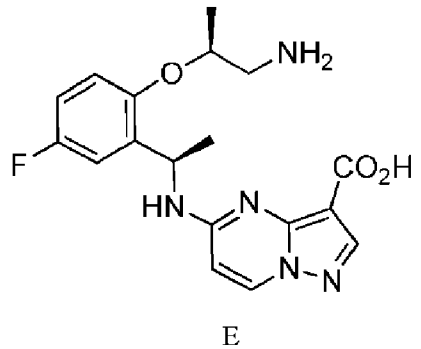
en presencia de una base para proporcionar un compuesto de la fórmula C



- 15 b. poner en contacto un compuesto de la fórmula C con una base inorgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula D



c. poner en contacto un compuesto de la fórmula D con un ácido para proporcionar un compuesto de la fórmula E

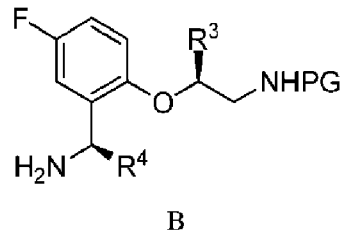


5

o

10 d. poner en contacto un compuesto de la fórmula E con una base en presencia de un reactivo de fosinato para proporcionar el compuesto de la fórmula I.

También se proporciona proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B

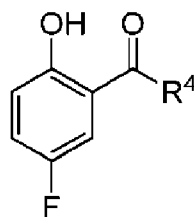


15

en donde

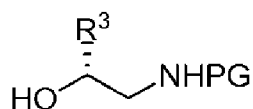
20 PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y
 R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; que comprende

a. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-1



25

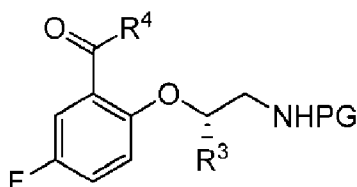
en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; con un compuesto de la fórmula B-2R



B-2R

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-3

5

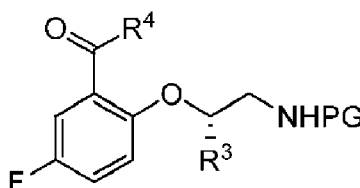


B-3

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; o

10

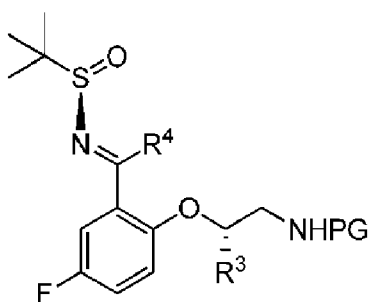
b. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-3



B-3

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; con (R)-2-metil-2-propanosulfonamida para proporcionar un compuesto de la fórmula B-6

15



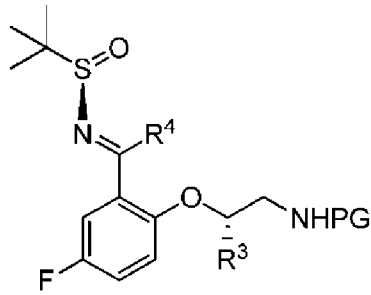
B-5

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; o

20

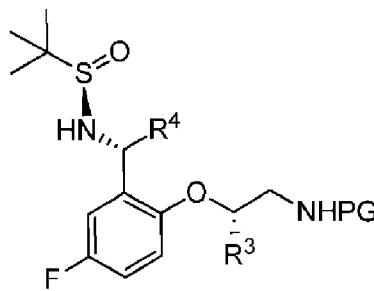
c. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-5

25



B-5

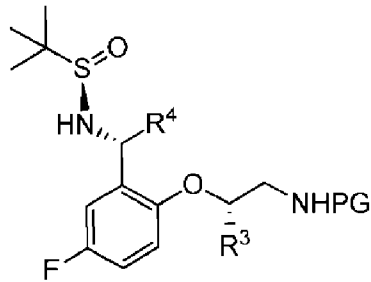
5 en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-6



B-6

10 en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

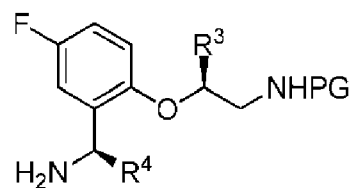
d. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-6



B-6

15 en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con un reactivo de yodo para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

20 También se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B



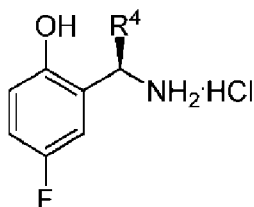
B

25 en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; que comprende

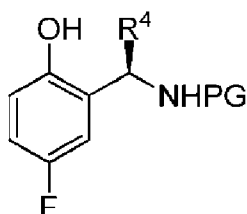
5

a. hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-7



B-7

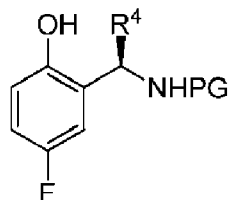
10 en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; bajo condiciones adecuadas para la preparación de un compuesto de la fórmula B-8



B-8

15 en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

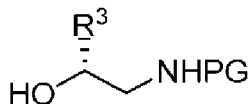
b. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-8



B-8

20

en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; con un compuesto de la fórmula B-2R

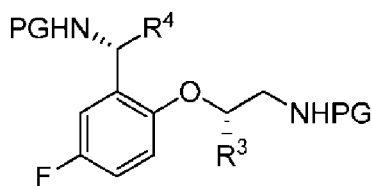


B-2R

25

en donde R³ es alquilo C₁-C₄, y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9

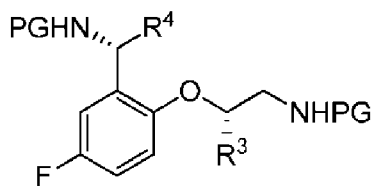
30



B-9

5 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; o

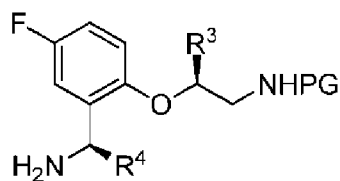
c. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9



B-9

10 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; con una base orgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

15 También se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B

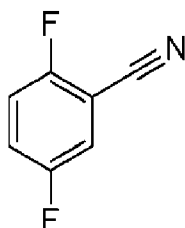


B

20 en donde

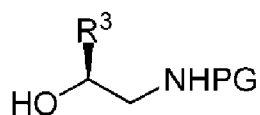
PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; que comprende

25 a. hacer reaccionar un compuesto de fórmula B-10



B-10

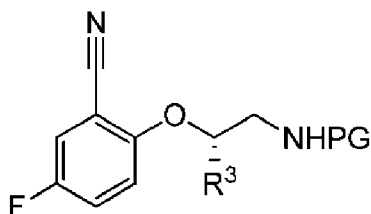
30 con un compuesto de la fórmula B-2S



B-2S

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 ; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de una base para proporcionar un compuesto de la fórmula B-11

5

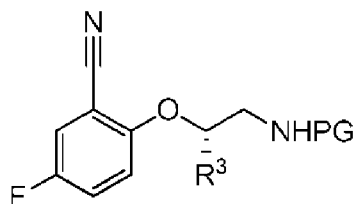


B-11

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

10

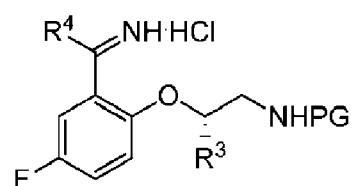
b. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-11



B-11

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un nucleófilo para proporcionar un compuesto de la fórmula B-12

15



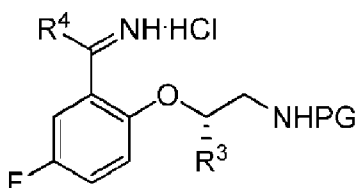
B-12

en donde R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

20

c. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-12

25



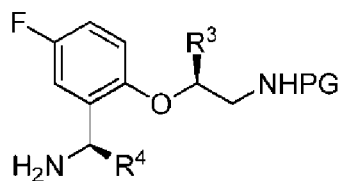
B-12

en donde R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un agente

30

reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

También se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B



B

5

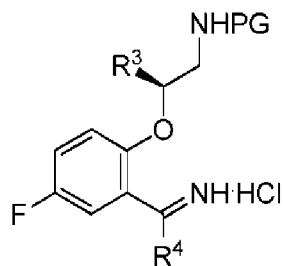
en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; que comprende

10

a. hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-12

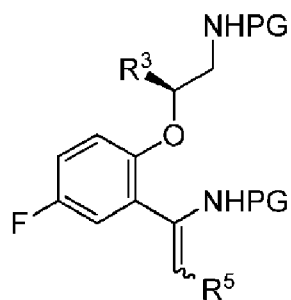
15



B-12

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; bajo condiciones adecuadas para la preparación de un compuesto de la fórmula B-13

20

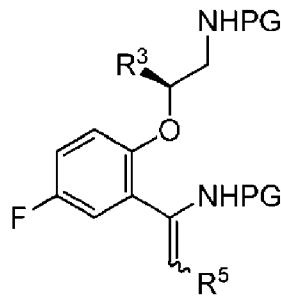


B-13

en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo formado por FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R³ es alquilo C₁-C₄; y R⁵ es alquilo C₁-C₃; o

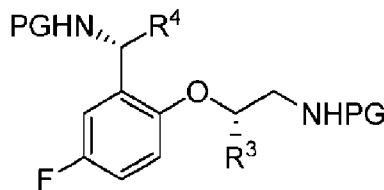
25

b. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-13



B-13

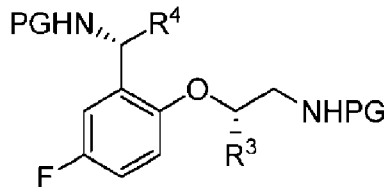
5 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo formado por FMOC, Boc, Cbz, CA, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R³ es alquilo C₁-C₄; y R⁵ es alquilo C₁-C₃; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9



B-9

10 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

c. poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9



B-9

15 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con una base orgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

20 Se proporciona además una forma de polimorfo cristalino de la invención, o una composición farmacéutica de la invención, para su uso en el tratamiento de un cáncer en un humano, opcionalmente en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, carcinoma hepatocelular, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer gástrico y esofagagástrico, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de partes blandas, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfomas linfocíticos, como el linfoma anaplásico de células grandes, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, neoplasias del sistema nervioso central (SNC), glioblastoma, linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, tumores miofibroblásticos inflamatorios y combinaciones de los mismos, en donde opcionalmente además el cáncer es cáncer de pulmón no microcítico.

Definiciones

Como se utiliza en el presente documento, el término "alquilo" incluye una cadena de átomos de carbono, que está opcionalmente ramificada y contiene de 1 a 4 átomos de carbono, y similares, y puede denominarse "alquilo inferior".

Los grupos alquilo ilustrativos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo.

5 Como se utiliza en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, el término "crecimiento celular anormal" se refiere al crecimiento celular que es independiente de los mecanismos regulatorios normales (por ejemplo, pérdida de la inhibición de contacto).

10 Como se utiliza en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, el término "tratamiento" significa revertir, aliviar, inhibir el progreso de (es decir, tratamiento curativo) o prevenir el trastorno o afección a la que se aplica dicho término o uno o más síntomas de dicho trastorno o afección. El término "tratamiento", como se utiliza en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere al acto de tratar tal como se acaba de definir "tratamiento". Tratamiento "preventivo" pretende indicar un aplazamiento del desarrollo de una enfermedad, un síntoma de una enfermedad o afección médica, suprimiendo los síntomas que pueden aparecer, o reducir el riesgo de desarrollo o recurrencia de una enfermedad o síntoma. Tratamiento "curativo" incluye reducir la gravedad o suprimir el empeoramiento de una enfermedad, síntoma o afección existente. Por lo tanto, el tratamiento incluye aliviar o prevenir el empeoramiento de los síntomas de enfermedad existentes, prevenir que aparezcan síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas subyacentes sistémicas de los síntomas, inhibir el trastorno o enfermedad, por ejemplo, detener el desarrollo del trastorno o enfermedad, aliviar el trastorno o enfermedad, causando la regresión del trastorno o enfermedad, aliviar una condición causada por la enfermedad o trastorno o detener los síntomas de la enfermedad o trastorno.

El término "sujeto" se refiere a un paciente mamífero que necesita dicho tratamiento, tal como un ser humano.

25 Como se utiliza en el presente documento, el término "esencialmente igual" con referencia a las posiciones del pico de difracción de rayos X significa que se tienen en cuenta la variabilidad de intensidad y la posición de pico típico. Por ejemplo, un experto en la materia apreciará que las posiciones pico (2θ) mostrarán cierta variabilidad entre aparatos, normalmente tanto como $0,1^\circ$. Además, un experto en la materia apreciará que las intensidades pico relativas mostrarán variabilidad entre aparatos, así como variabilidad debido al grado de cristalinidad, orientación preferida, superficie de muestra preparada y otros factores conocidos para los expertos en la materia, y deben tomarse sólo como medidas cualitativas.

35 Como se utiliza en el presente documento, el término "grupo protector" o "PG" se refiere a cualquier grupo conocido comúnmente por un experto en la materia que puede ser introducido en una molécula por modificación química de un grupo funcional, tal como una amina o un hidroxilo, para obtener quimiospecificidad en una reacción química posterior. Se apreciará que estos grupos protectores se pueden extraer posteriormente del grupo funcional en un momento posterior de una síntesis para proporcionar más oportunidad para la reacción a dichos grupos funcionales o, en el caso de un producto final, para desenmascarar dicho grupo funcional. Se describen grupos protectores, por ejemplo, en Wuts, P. G. M., Greene, T. W., Greene, T. W., y John Wiley e hijos. (2006). *Greene's protective groups in organic synthesis*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience. Un experto en la materia apreciará con facilidad las condiciones de proceso químico bajo las cuales estos grupos protectores pueden instalarse en un grupo funcional. Los grupos protectores de amina adecuados útiles en relación con la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, 9-Fluorenilmetil-carbonilo (Fmoc), *t*-butilcarbonilo (Boc), benziloxicarbonilo (Cbz), acetilo (Ac), trifluoroacetilo, ftalimida, bencilo (Bn), trifenilmetilo (trilito, Tr), bencilideno y *p*-toluenosulfonilo (tosilamida, Ts).

45 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina de la base libre (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxa-triazaciclotridecin-4(5H)-ona, forma de polimorfo 1.

50 La Figura 2 muestra un termograma de calorímetro de exploración diferencial (DSC) de la forma cristalina de la base libre (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5H)-ona, forma de polimorfo 1. (a) curva de TG; (b) % de curva de TG.

55 Descripción detallada

Antes de describir con más detalle la presente divulgación, debe entenderse que esta divulgación no está limitada a las realizaciones particulares descritas que, por supuesto, pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento sólo pretende describir realizaciones específicas y no pretende ser limitante ya que el alcance de la presente divulgación se limitará sólo por las reivindicaciones adjuntas.

60 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen los mismos significados que se entenderían comúnmente por un técnico en la materia a la que pertenece esta divulgación. Si se establece una definición en esta sección contraria o de otra manera inconsistente con una definición establecida en una patente, solicitud u otra publicación que se incorpore en el presente documento por referencia, la definición establecida en esta sección prevalece sobre la definición incorporada en el presente documento por referencia.

Como se utiliza en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un," "una", "uno" y "el", "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Además, cabe señalar que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración está destinada para servir como antecedente base para el uso de esta terminología exclusiva, tal como "solamente", "sólo" y similares, en relación con la recitación de los elementos de la reivindicación o el uso de una limitación "negativa".

Se ha preparado una forma física única de la base libre de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5H)-ona según los métodos descritos en el presente documento. El patrón de difracción de rayos X de polvo (PXRD) de la forma de polimorfo de la base libre 1 se muestra en la Figura 1, con datos presentados en forma de tabla correspondientes que se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

2 θ	valor d	Altura de pico	Intensidad de pico (%)
9,4	0,94555	5982	50,7
10,9	0,80934	807	9,9
13,3	0,66425	1609	20,9
15,1	0,58566	1294	14,5
16,1	0,54960	3653	40,7
16,5	0,53704	4873	50,6
18,8	0,47191	4970	76,2
19,4	0,45746	761	9,7
19,8	0,44832	634	7,4
20,9	0,42579	1671	21,1
21,2	0,41905	2891	29,8
22,8	0,39036	4500	53,5
23,6	0,37762	875	9,4
23,9	0,37233	2600	32,5
24,5	0,36394	1307	15,5
24,8	0,35903	808	8,6
25,6	0,34853	1057	16,2
26,7	0,33392	842	10,6
27,4	0,32578	8974	100,0
28,6	0,31174	2804	35,2
29,1	0,30692	711	8,3
29,5	0,30325	961	11,4
29,9	0,29850	888	11,9
30,2	0,29561	976	11,2
30,7	0,29110	631	6,2
32,1	0,27908	708	4,5
32,4	0,27623	1200	17,2
33,9	0,26451	515	8,4
34,5	0,26005	512	8,0
36,9	0,24367	697	16,1
37,6	0,23930	438	3,7
38,0	0,23675	538	7,1
38,3	0,23521	598	5,9
39,1	0,23058	742	12,8
39,9	0,22592	658	15,7
40,4	0,22335	908	12,5
41,8	0,21589	941	12,0
42,9	0,21062	582	6,4
43,4	0,20849	1309	22,9
43,9	0,20615	720	6,8
49,6	0,18367	658	6,2

El termograma de DSC para la forma de polimorfo cristalino 1 se muestra en la Figura 2.

En un aspecto, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención se dirigen específicamente a receptores tirosina quinasas, en particular ALK, ROS1, TRK, JAK2, SRC o FAK. Por lo tanto, estos compuestos y las composiciones farmacéuticas pueden utilizarse para prevenir, revertir, ralentizar o inhibir la actividad de una o más de

estas quinasas. En algunas realizaciones, se describen en el presente documento métodos de tratamiento de enfermedad mediada por uno o más receptores tirosina quinasa.

5 Las enfermedades ilustrativas incluyen cáncer, dolor, enfermedades neurológicas, enfermedades autoinmunitarias e inflamación.

10 En algunas realizaciones, en el presente documento se describen métodos de tratamiento del cáncer que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I. El cáncer incluye, pero sin limitación, cáncer de pulmón, tal como cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico y similares, cáncer óseo, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de la cabeza o el cuello, carcinoma hepatocelular, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer gástrico y esófago-gástrico, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, 15 cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfomas linfocíticos, tal como linfoma de la célula grande anaplásico, cáncer de la vejiga, cáncer del riñón o del uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, neoplasias del sistema nervioso central (SNC), tales como glioblastoma, linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, glioma de tronco encefálico y similares, adenoma pituitario, tumores miofibroblásticos inflamatorios y combinaciones de los mismos. En otras 20 realizaciones, los métodos son para el tratamiento de cáncer de pulmón o cáncer de pulmón no microcítico.

25 En algunas realizaciones, en el presente documento se describen métodos de tratamiento o prevención del dolor que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I. El dolor incluye, por ejemplo, dolor de cualquier fuente o etiología, incluyendo dolor provocado por el cáncer, dolor debido al tratamiento quimioterapéutico, dolor neural, dolor por lesión u otras fuentes.

30 En algunas realizaciones, en el presente documento se describen métodos de tratamiento de enfermedades autoinmunitarias que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I. Las enfermedades autoinmunitarias incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, diabetes tipo I y lupus. Las enfermedades neurológicas ilustrativas incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la enfermedad de Huntington.

35 En algunas realizaciones, en el presente documento se describen métodos de tratamiento de enfermedades inflamatorias de inflamación que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I. Las enfermedades inflamatorias ilustrativas incluyen aterosclerosis, alergia e inflamación por una infección o lesión.

40 En los métodos de tratamiento de acuerdo con la invención, una "cantidad eficaz" significa una cantidad o dosis suficiente para lograr generalmente el beneficio terapéutico deseado en sujetos que necesitan este tipo de tratamiento. Las cantidades o dosis eficaces de los compuestos de la invención pueden determinarse por métodos convencionales, tales como modelado, escalado de dosis o ensayos clínicos, teniendo en cuenta factores de rutina, por ejemplo, el modo o vía de administración o entrega de fármacos, la farmacocinética del agente, la gravedad y curso de la infección, el estado de salud, las condiciones y el peso del sujeto, y el juicio del médico tratante. Una dosis ilustrativa se encuentra en el rango de alrededor de 0,1 mg a 1 g al día, o de alrededor de 1 mg a 50 mg al día, o de alrededor de 50 a 250 45 mg al día, o de alrededor de 250 mg a 1 g al día. La dosis total puede administrarse en formas farmacéuticas de una sola dosis o de dosis divididas (por ejemplo, BID, TID, QID).

50 Una vez que ha ocurrido la mejoría de la enfermedad del paciente, la dosis puede ajustarse para el tratamiento preventivo o de mantenimiento. Por ejemplo, puede reducirse la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, 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 tratamiento intermitente a largo plazo por cualquier recurrencia de los síntomas. Los pacientes también pueden requerir tratamiento crónico a largo plazo.

55 Composiciones farmacéuticas

60 La presente divulgación se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden la forma de polimorfo de la base libre 1 del Compuesto I que se describe en el presente documento. Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden estar, por ejemplo, en una forma conveniente para la administración oral, tal como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, formulaciones de liberación sostenida, solución, suspensión para inyección parenteral como una solución, suspensión o emulsión estéril, para la administración tópica como una pomada o crema o para la administración rectal como un supositorio. La composición farmacéutica puede encontrarse en formas farmacéuticas adecuadas para una sola administración de la dosificación precisa. La composición farmacéutica puede incluir excipientes farmacéuticamente aceptables convencionales. Además, las composiciones farmacéuticas 65 descritas en el presente documento pueden incluir otros agentes, vehículos, adyuvantes, etc. farmacéuticos o medicinales.

Un excipiente farmacéuticamente aceptable es una sustancia no tóxica y biológicamente adecuada para la administración a un sujeto. Estos excipientes facilitan la administración de los compuestos descritos en el presente documento y son compatibles con el ingrediente activo. Los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen estabilizadores, lubricantes, tensioactivos, diluyentes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes, agentes de carga, emulsionantes o agentes de modificación de sabor. En las realizaciones preferidas, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son composiciones estériles. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse utilizando técnicas de formación de compuestos conocidas o que se encuentran disponibles para los expertos en la materia.

También se contemplan por la invención composiciones estériles, incluyendo composiciones que se encuentran de acuerdo con las regulaciones nacionales y locales que rigen tales composiciones.

Las composiciones farmacéuticas y compuestos descritos en el presente documento pueden formularse como soluciones, emulsiones, suspensiones o dispersiones en disolventes o vehículos farmacéuticos adecuados, o como píldoras, comprimidos, pastillas, supositorios, sobres, grageas, gránulos, polvos, polvos para reconstitución o cápsulas junto con vehículos sólidos de acuerdo con métodos convencionales conocidos en la materia para la preparación de varias formas farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar por una vía de entrega adecuada, tales como las vías oral, parenteral, rectal, nasal, tópica u ocular, o por inhalación. En algunas realizaciones, las composiciones se formulan para administración intravenosa u oral.

Para la administración oral, los compuestos de la invención pueden proporcionarse en una forma sólida, tal como un comprimido o cápsula, o como una solución, emulsión o suspensión. Para preparar las composiciones orales, los compuestos de la invención se pueden formular para producir una dosis, por ejemplo, de alrededor de 0,1 mg a 1 g al día, o de alrededor de 1 mg a 50 mg al día, o de alrededor de 50 a 250 mg al día, o de alrededor de 250 mg a 1 g al día. Los comprimidos orales pueden incluir los ingredientes activos mezclados con excipientes farmacéuticamente aceptables compatibles, tales como diluyentes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Las cargas inertes adecuados incluyen sodio y carbonato de calcio, sodio y fosfato de calcio, lactosa, almidón, azúcar, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Los excipientes orales líquidos ilustrativos incluyen etanol, glicerol, agua y similares. El almidón, polivinil-pirrolidona (PVP), glicolato sódico de almidón, celulosa microcristalina y ácido algínico son agentes disgregantes ilustrativos. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina. El agente lubricante, si se encuentra presente, puede ser estereato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden estar recubiertos con un material tal como monoestereato de glicerilo o diestereato de glicerilo para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal o pueden recubrirse con un recubrimiento entérico.

Las cápsulas para la administración oral incluyen cápsulas de gelatina duras y blandas. Para preparar las cápsulas de gelatina duras, los ingredientes activos pueden mezclarse con un diluyente sólido, semisólido o líquido. Las cápsulas de gelatina blandas pueden prepararse mediante mezclado del 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.

Los líquidos para la administración oral pueden encontrarse en forma de suspensiones, soluciones, emulsiones o jarabes, o pueden liofilizarse o presentarse como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Estas composiciones líquidas pueden contener opcionalmente: excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, sorbitol, metilcelulosa, alginato de sodio, gelatina, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato 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 sórbico); agentes humectantes tales como lecitina; y, si se desea, agentes aromatizantes o colorantes.

Para el uso parenteral, incluyendo las vías intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal o subcutánea, los agentes de la invención 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. Estas formas pueden presentarse en una forma farmacéutica unitaria tal como ampollas o dispositivos de inyección desechables, en formas de multidosis tales como viales de los que puede extraerse la dosis apropiada, o en una forma sólida o preconcentrada que puede utilizarse para preparar una formulación inyectable. Las dosis de infusión ilustrativas varían entre alrededor de 1 a 1000 µg/kg/minuto de agente mezclado con un vehículo farmacéutico durante un período que va desde varios minutos hasta varios días.

Para la administración nasal, inhalada u oral, las composiciones farmacéuticas inventivas pueden administrarse utilizando, por ejemplo, una formulación en aerosol que también contiene un vehículo adecuado. Las composiciones inventivas pueden formularse para la administración rectal como un supositorio.

Para aplicaciones tópicas, los compuestos de la presente invención preferentemente se formulan como cremas o

ungüentos o un vehículo similar adecuado para la administración tópica. Para la administración tópica, los compuestos inventivos pueden mezclarse con un vehículo farmacéutico a una concentración de alrededor del 0,1 % a alrededor del 10 % de fármaco con respecto a vehículo. Otro modo de administración de los agentes de la invención puede utilizar una formulación en parche para efectuar una entrega transdérmica.

5 Los métodos para preparar diferentes composiciones farmacéuticas con una cantidad específica de compuesto activo son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en la materia. Para ejemplos, véase *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Easter, Pa., 15^o Edición (1975).

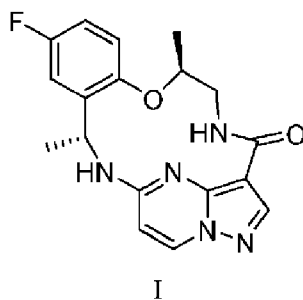
10 Combinación de fármacos

Los compuestos inventivos descritos en el presente documento pueden utilizarse en composiciones farmacéuticas o métodos en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales en el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos en el presente documento. Otros ingredientes activos adicionales incluyen otras terapias o agentes que mitigan los efectos adversos de las terapias para los objetivos previstos de la enfermedad. Estas combinaciones pueden servir para aumentar la eficacia, aminorar otros síntomas de la enfermedad, disminuir uno o más efectos secundarios o disminuir la dosis necesaria de un compuesto inventivo. Los ingredientes activos adicionales se pueden administrar en una composición farmacéutica separada de un compuesto de la presente invención o pueden incluirse con un compuesto de la presente invención en una sola composición farmacéutica. Los ingredientes activos adicionales pueden administrarse simultáneamente con, antes de, o después de la administración de un compuesto de la presente invención.

Los agentes de combinación incluyen ingredientes activos adicionales son aquellos que son conocidos o se descubre que son eficaces en el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos en el presente documento, incluyendo aquellos activos contra otro objetivo asociado con la enfermedad. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la invención, así como, los métodos de tratamiento pueden además comprender otros fármacos o productos farmacéuticos, por ejemplo, otros agentes activos útiles para el tratamiento o paliativos para las enfermedades objetivo o síntomas relacionados o padecimientos. Para las indicaciones contra el cáncer, estos agentes adicionales incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la quinasa, tales como inhibidores de EGFR (por ejemplo, el erlotinib, gefitinib), inhibidores de RAF (por ejemplo, vemurafenib), inhibidores de VEGFR (por ejemplo, sunitinib) Agentes de quimioterapia estándar de inhibidores de ALK (por ejemplo, crizotinib) tales como agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, los inhibidores de topoisomerasa, fármacos de platino, inhibidores mitóticos, anticuerpos, terapias hormonales o corticosteroides. Para indicaciones contra el dolor, los agentes de combinación adecuados incluyen antiinflamatorios tales como AINE. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender además uno o más de estos agentes activos, y los métodos de tratamiento pueden comprender además administrar una cantidad eficaz de uno o más de estos agentes activos.

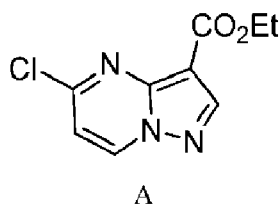
Métodos de síntesis

40 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula I

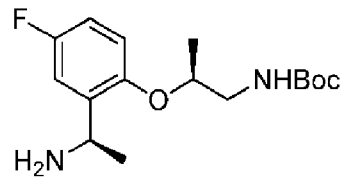


que comprende

45 (a) poner en contacto un compuesto de la fórmula A



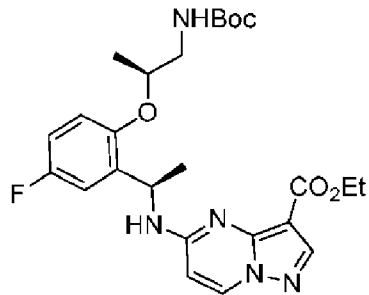
50 con un compuesto de la fórmula B



B-14

en presencia de una base para proporcionar un compuesto de la fórmula C

5

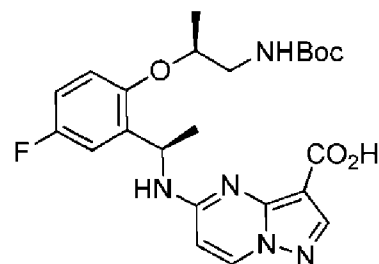


C

; o

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula C con una base inorgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula D

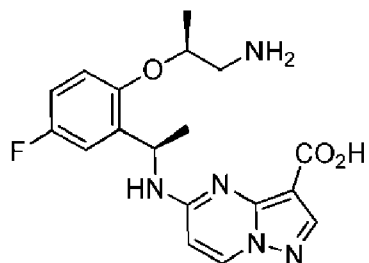
10



D

15 ; o

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula D con un ácido para proporcionar un compuesto de la fórmula E



E

20

; o

(d) poner en contacto un compuesto de la fórmula E con una base en presencia de un reactivo de fosfinato para proporcionar el compuesto de la fórmula I.

25

Se apreciará que la presente divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula I descrito

en los párrafos anteriores, que comprenden más de uno de lo paso mencionados en la alternativa. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (a) y (b). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (c) y (d). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (a), (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (b), (c) y (d). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I, que comprende los pasos (a), (b), (c) y (d).

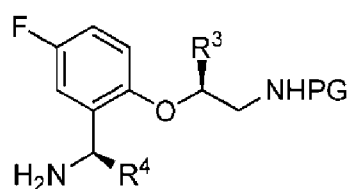
En el primer paso (a), la base puede ser cualquier base orgánica, tal como una base amina. Las bases amina adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DIEA, TEA, tributilamina, 2,6-lutidina, 2,2,6,6-tetrametilguanidina y similares. En algunas realizaciones, el paso (a) puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente prótico polar, tal como un disolvente de alcohol. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH y similares. En algunas realizaciones, el disolvente prótico polar es n-BuOH. En algunas realizaciones, el paso (a) puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de 50 °C a alrededor de 150 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es alrededor de 120 °C.

En el paso (b), la base inorgánica puede ser cualquier base inorgánica, tal como una base hidróxido. Las bases hidróxido adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hidróxido de sodio, hidróxido de litio y similares. En algunas realizaciones, el paso (b) puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente prótico polar, un disolvente aprótico polar o una mezcla de los mismos. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH, H₂O y similares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el paso (b) puede ser llevado a cabo en una mezcla de disolventes, tales como THF/MeOH/H₂O. En algunas realizaciones, el paso (b) puede ser llevado a cabo a una temperatura de alrededor de 30 °C a alrededor de 100 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 70 °C.

En el paso (c), el ácido puede ser un ácido inorgánico fuerte, tal como HCl, tal como 2 M de HCl. En algunas realizaciones, el ácido puede ser una solución de un ácido fuerte en un disolvente aprótico polar, tal como Et₂O. Por ejemplo, un ácido adecuado para el uso en el paso (c) puede incluir 2 M de HCl en Et₂O. En algunas realizaciones, el paso (c) puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar extra. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (a) puede llevarse a cabo a una temperatura o de alrededor de 0 °C a alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es alrededor de 25 °C.

En el primer paso (d), la base puede ser cualquier base orgánica, tal como una base amina. Las bases amina adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DIEA, TEA, tributilamina, 2,6-lutidina, 2,2,6,6-tetrametilguanidina y similares. Los reactivos de fosfinato adecuados incluyen los conocidos para un experto en la materia, los cuales son útiles en la preparación de un éster activado de un ácido carboxílico, tal como pentafluorofenil difenilfosfinato (FDPP). En algunas realizaciones, el paso (d) puede llevarse a cabo en presencia de otro disolvente aprótico polar o una mezcla de disolventes apróticos polares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es una mezcla de DMF y DCM. En algunas realizaciones, el paso (a) puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C a alrededor de 25 °C.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un proceso (Método A) para la preparación de un compuesto de la fórmula B



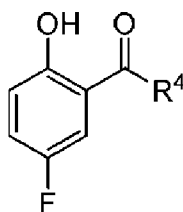
B

en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y
R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄;

que comprende

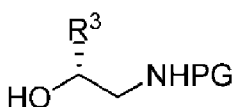
(a) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-1



5

B-1

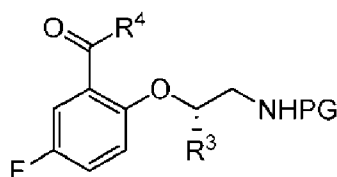
en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; con un compuesto de la fórmula B-2R



10

B-2R

en donde R³ es alquilo C₁-C₄, y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-3



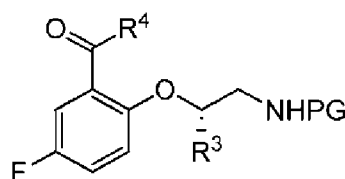
15

B-3

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

20

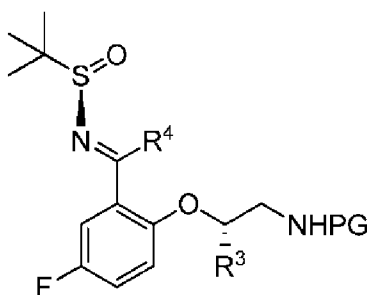
(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-3



B-3

25

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con (R)-2-metil-2-propanosulfonamida para proporcionar un compuesto de la fórmula B-6

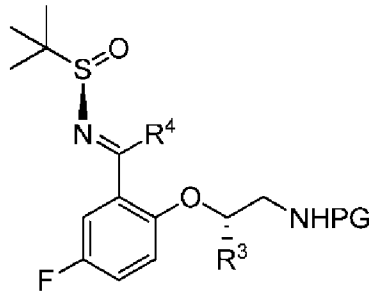


B-5

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

5

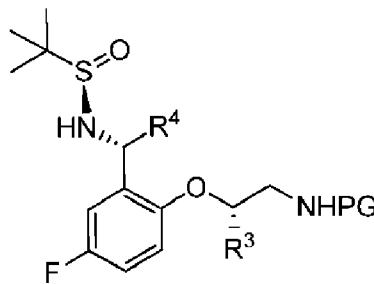
(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-5



B-5

10

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-6



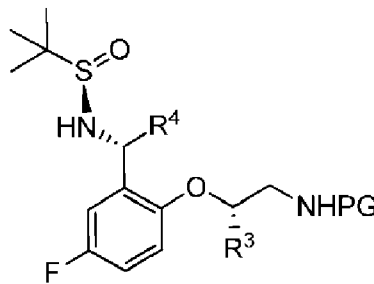
B-6

15

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

20

(d) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-6



B-6

25

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con un reactivo de yodo para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

30

Se apreciará que la presente divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula B de acuerdo con el Método A descrito en los párrafos anteriores, que comprende más de uno de lo paso mencionados en la alternativa. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a) y (b). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (c) y (d). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de

la fórmula B, que comprende los pasos (a), (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (b), (c) y (d). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a), (b), (c) y (d).

5 En el paso (a) del Método A, el reactivo de azodicarboxilato puede ser cualquier reactivo de este tipo conocido en la materia. Los reactivos de azodicarboxilato adecuados incluyen, pero no se limitan a, DEAD, azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD), di-(4-clorobencil)azodicarboxilato (DCAD) y similares. En el paso (a) del Método A, el reactivo de fosfina puede ser cualquier reactivo de organofosfina comúnmente conocido en la materia, incluyendo, pero no limitado a, trifetilfosfina, tributilfosfina y similares. En algunas realizaciones, el paso (a) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (a) del Método A puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es alrededor de 0 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, PG es Boc.

En algunas realizaciones, se puede preparar un compuesto de la fórmula B-2 al poner en contacto (*R*)-1-aminopropan-2-ol con (Boc)₂O en presencia de una base amina.

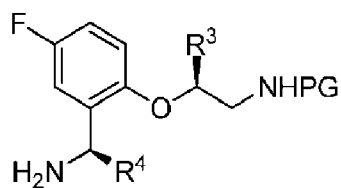
20 En algunas realizaciones, el paso (b) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un ácido de Lewis. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un barredor de agua. En algunas realizaciones, el barredor de agua y el ácido de Lewis pueden ser el mismo reactivo. En algunas realizaciones, el barredor de agua y el ácido de Lewis pueden ser reactivos diferentes. Los ácidos de Lewis adecuados incluyen, pero no se limitan a, sulfato de cobre (II), sulfato de magnesio, tetraetoxititanio, tetraisopropoxititanio y similares. Los barredores de agua adecuados incluyen, pero no se limitan a piridinio *p*-toluenosulfonato, sulfato de magnesio, sulfato de sodio, tetraetoxititanio, tetraisopropoxititanio y similares. En algunas realizaciones, el barredor de agua y el ácido de Lewis es tetraetoxititanio. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de una mezcla de disolventes apróticos polares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es una mezcla de THF y 2-metil-THF. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método A puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de 0 °C a alrededor de 80 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 15 °C a alrededor de 65 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, PG es Boc.

En el paso (c) del Método A, el agente de reducción puede ser cualquier elemento o compuesto conocido comúnmente en la materia que pierde (o "dona") un electrón a otra especie química en una reacción química redox, incluyendo, pero no limitado a reactivos hidruro, hidrógeno elemental, reactivos silano, reactivos éster de Hantzsch y similares. Los agentes de reducción adecuados incluyen, pero no se limitan a, NaBH₄, LiAlH₄ y H₂. En algunas realizaciones, el agente de reducción en el paso (c) del Método A es NaBH₄. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente orgánico polar. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de disolventes orgánicos polares. En algunas realizaciones, el disolvente o mezcla orgánica polar de los disolventes orgánicos polares pueden ser apróticos polares o próticos polares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, *i*PrOH, *n*-BuOH, *sec*-BuOH, H₂O y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es una mezcla de THF y H₂O. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método A puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -78 °C a 30 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de -50 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, PG es Boc.

En el paso (d) del Método A, el reactivo de yodo puede ser cualquier reactivo de yodo conocido en la materia útil para la desprotección de una sulfnamida. En algunas realizaciones, el reactivo de yodo es I₂. En algunas realizaciones, el paso (d) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente orgánico polar. En algunas realizaciones, el paso (d) del Método A puede llevarse a cabo en presencia de una mezcla de disolventes orgánicos polares. En algunas realizaciones, el disolvente o mezcla orgánica polar de los disolventes orgánicos polares pueden ser apróticos polares o próticos polares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, *i*PrOH, *n*-BuOH, *sec*-BuOH, H₂O y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es una mezcla de THF y H₂O. En algunas realizaciones, el paso (d) del Método A puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de 0 °C a alrededor de 80 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 25 °C a alrededor de 60 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, PG es Boc.

65 Por otra parte, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona un proceso (Método B) para la preparación de un

compuesto de la fórmula B



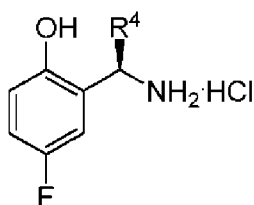
B

5 en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y

10 R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; que comprende

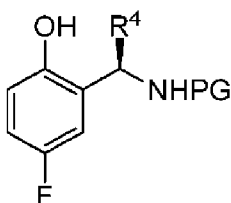
(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-7



B-7

15

en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; bajo condiciones adecuadas para la preparación de un compuesto de la fórmula B-8



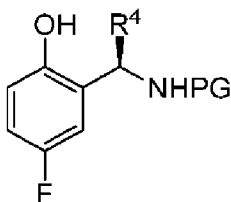
B-8

20

en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-8

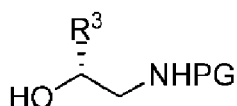
25



B-8

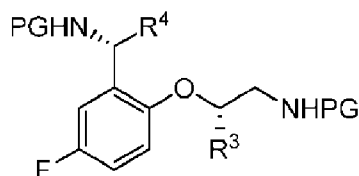
en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; con un compuesto de la fórmula B-2R

30



B-2R

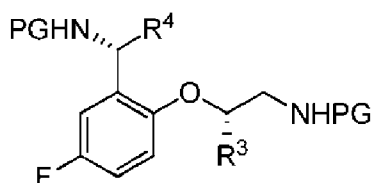
5 en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9



B-9

10 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; o

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9



B-9

15 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 ; con una base orgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

20 Se apreciará que la presente divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula B de acuerdo con el Método B como se describe en los párrafos anteriores, que comprenden más de uno de los pasos mencionados en la alternativa. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a) y (b). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a), (b) y (c).

30 En el paso (a) del Método B, un compuesto de la fórmula B-7 puede hacerse reaccionar bajo condiciones adecuadas para introducir un grupo protector de amina (o PG). Se apreciará que estas condiciones se conocen comúnmente por un experto en la materia, y puede utilizarse cualquiera de estas condiciones compatibles con la funcionalidad de un compuesto de la fórmula B-7 y el resto del proceso descrito en el método B. Los grupos protectores adecuados (o PG) incluye, pero no se limitan a, FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts. En algunas realizaciones, PG es trifluoroacetilo. En algunas realizaciones, un compuesto de la fórmula B-7 puede hacerse reaccionar bajo condiciones adecuadas para introducir un trifluoroacetilo.

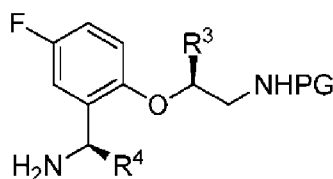
40 En algunas realizaciones, el paso (a) del Método B implica poner en contacto un compuesto de la fórmula B-7 con anhídrido trifluoroacético en presencia de una base orgánica, tal como una base amina. Las bases amina adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DIEA, TEA, tributilamina, 2,6-lutidina, 2,2,6,6-tetrametilguanidina y similares. En algunas realizaciones, el paso (a) del Método B puede llevarse a cabo en un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (a) del método B puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C. En algunas realizaciones, R^4 es metilo. En algunas realizaciones, PG es trifluoroacetilo.

En el paso (b), del Método B, el reactivo de azodicarboxilato puede ser cualquier reactivo conocido en la materia. Los

reactivos de azodicarboxilato adecuados incluyen, pero no se limitan a, DEAD, azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD), di-(4-clorobencil)azodicarboxilato (DCAD) y similares. En el paso (b) del método B, el reactivo de fosfina puede ser cualquier reactivo de organofosfina comúnmente conocido en la materia, incluyendo, pero no limitado a trifenilfosfina, tributilfosfina y similares. En algunas realizaciones, el paso (b) del método B puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método B puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, una PG es Boc y un PG es trifluoroacetilo.

En algunas realizaciones, el paso (c) del Método B puede llevarse a cabo bajo condiciones adecuadas para retirar uno de los grupos Pg en un compuesto de la fórmula B-9, mientras que otro grupo PG permanece intacto. En el paso (c) del Método B, la base inorgánica puede ser cualquier base inorgánica, tal como una base de hidróxido. Las bases hidróxido adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hidróxido de sodio, hidróxido de litio y similares. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método B puede realizarse en presencia de un disolvente prótico polar, un disolvente aprótico polar o una mezcla de los mismos. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH, H₂O y similares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O, DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método B puede llevarse a cabo en una mezcla de disolventes, tales como THF/MeOH. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método B puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de 30 °C a alrededor de 100 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, una PG es Boc y un PG es trifluoroacetilo.

Por otra parte, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona un proceso (Método C) para preparar un compuesto de la fórmula B

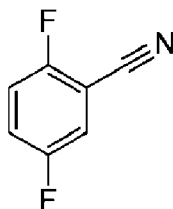


B

en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y
R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄,
que comprende

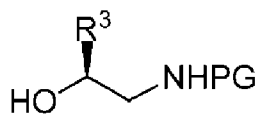
(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-10



B-10

40

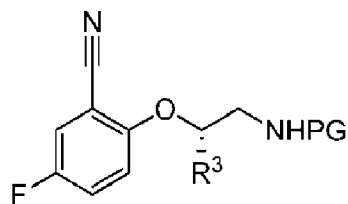
con un compuesto de la fórmula B-2S



B-2S

en donde R³ es alquilo C₁-C₄; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; en presencia de una base para proporcionar un

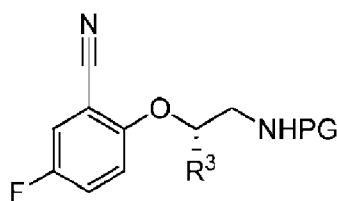
compuesto de la fórmula B-11



B-11

5 en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-11

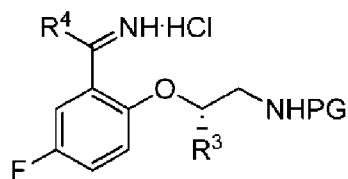


B-11

10

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un nucleófilo para proporcionar un compuesto de la fórmula B-12

15

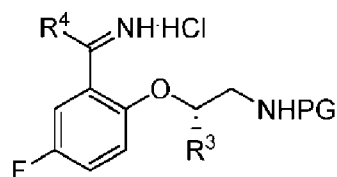


B-12

20 en donde R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; o

20

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-12



B-12

25 en donde R^3 y R^4 son cada uno de manera independiente alquilo C_1-C_4 , y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

30 Se apreciará que la presente divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula B según el método C tal como se describe en los párrafos anteriores, que comprenden más de uno de los pasos mencionados en la alternativa. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a) y (b). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a), (b) y (c).

35

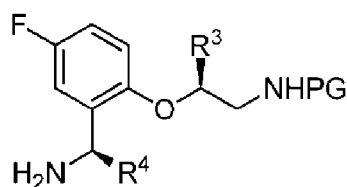
En el paso (a) del Método C, la base puede ser cualquier base no nucleófila conocida por los expertos en la materia. Las bases fuertes, bases no nucleófilas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, KHMDS terc-butóxido de potasio, amida de litio diisopropilica, 1,5,7-triazabicyclo (4.4.0)dec-5-eno (TBD), 7-metil-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,1,3,3-tetrametilguanidina (TMG) y similares. En algunas realizaciones, la base no nucleófila, fuerte es KHMDS. En algunas realizaciones, el paso (a) del Método C puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el primer disolvente aprótico polar es THF. En algunas realizaciones, el paso (a) del Método C puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 40 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, R³ es metilo. En algunas realizaciones, un PG es Boc.

En el paso (b) del Método C, el nucleófilo puede ser cualquier nucleófilo capaz de entregar un átomo de carbono nucleófilo al grupo funcional nitrilo. Los nucleófilos adecuados incluyen, pero no se limitan a, reactivos haluro metálico alquilo, tales como reactivos Grignard y reactivos organolitio. En algunas realizaciones, el nucleófilo en el paso (b) del método C es alquil C₁-C₄-MgBr. En algunas realizaciones, el nucleófilo en el paso (b) del método C es MeMgBr. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método C puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el primer disolvente aprótico polar es THF. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método C además comprende la adición de un disolvente de alcohol, tal como metanol o etanol, para mitigar la reacción. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método C además comprende la adición un ácido inorgánico fuerte para formar una sal de iminio. En algunas realizaciones, el ácido fuerte es una solución de éter de HCl. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método C puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -80 °C a alrededor de 40 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de -78 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son metilo. En algunas realizaciones, una PG es Boc.

En el paso (c) del Método C, el agente de reducción puede ser cualquier elemento o compuesto comúnmente conocido en la materia que pierde (o "dona") un electrón a otra especie química en una reacción química redox, incluyendo, pero no limitada a reactivos hidruro, hidrógeno elemental, reactivos silano, reactivos de éster de Hantzsch y similares. Los agentes reductores adecuado incluyen, H₂ y éster de Hantzsch. En algunas realizaciones, es conveniente poner en contacto el agente de reducción en presencia de un catalizador, tal como un catalizador de iridio, un catalizador de rutenio, un catalizador de rodio, un catalizador de paladio o similares. Un experto en la materia apreciará que el catalizador puede ser cualquier sistema de catalizadores conocido en la materia que es capaz de promover la reducción de una sal de iminio a una amina. En algunas realizaciones, el catalizador es [Ir(COD)Cl]₂/(S,S)-f-binafano. En algunas realizaciones, el agente de reducción en el paso (c) del Método C es H₂ en presencia de [Ir(COD)Cl]₂ y (S,S)-f-binafano. En algunas realizaciones, el H₂ se aplica de alrededor de 2 atmósferas de presión a alrededor de 15 atmósferas de presión. En algunas realizaciones, el H₂ se aplica a alrededor de 10 atmósferas de presión.

En algunas realizaciones, el paso (c) del Método C puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente prótico polar, tal como un disolvente de alcohol. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH y similares. En algunas realizaciones, el disolvente prótico polar es MeOH. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método C puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método C puede llevarse a cabo en una mezcla de un disolvente prótico polar y un disolvente aprótico polar. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método C puede llevarse a cabo en una mezcla de un DCM y MeOH.

Por otra parte, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona un proceso (Método D) para la preparación de un compuesto de la fórmula B



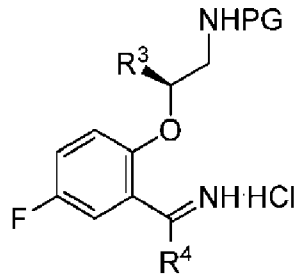
B

en donde

PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y
R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄;

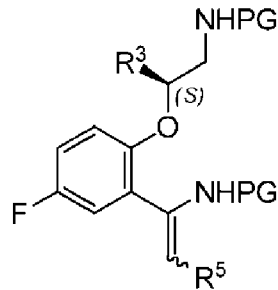
que comprende

(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-12



B-12

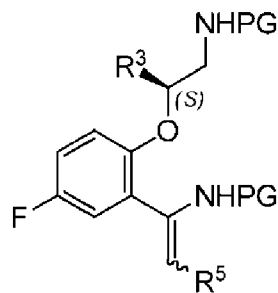
en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; bajo condiciones adecuadas para la preparación de un compuesto de la fórmula B-13



B-13

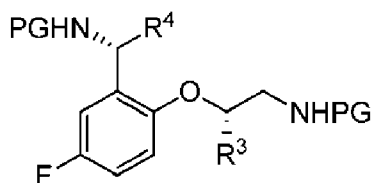
en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo formado por FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R³ es alquilo C₁-C₄; y R⁵ es alquilo C₁-C₃; o

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-13



B-13

en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo formado por FMOC, Boc, Cbz, CA, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R³ es alquilo C₁-C₄; y R⁵ es alquilo C₁-C₃; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9

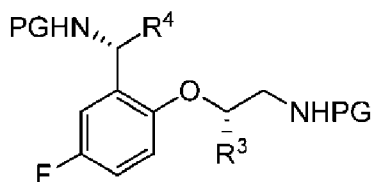


B-9

en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; o

5

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9



B-9

10 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno, y Ts; dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente alquilo C₁-C₄; con una base orgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

15 Se apreciará que la presente divulgación proporciona procesos para preparar un compuesto de la fórmula B de acuerdo con el método D como se describe en los párrafos anteriores, que comprende más de uno de los pasos mencionados en la alternativa. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a) y (b). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (b) y (c). Alternativamente, la presente divulgación proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula B, que comprende los pasos (a), (b) y (c).

20 En algunas realizaciones, el paso (a) del Método D consiste en poner en contacto un compuesto de la fórmula B-12 con anhídrido trifluoroacético en presencia de una base orgánica, tal como una base amina. Las bases amina adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DIEA, TEA, tributilamina, 2,6-lutidina, 2,2,6,6-tetrametilguanidina y similares. 25 En algunas realizaciones, el paso (a) del Método D puede llevarse a cabo en un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (a) del método D puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de -20 °C a alrededor de 25 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de alrededor de 0 °C. En algunas realizaciones, R⁴ es metilo. 30 En algunas realizaciones, PG es trifluoroacetilo.

35 En el paso (b) del Método D, el agente de reducción puede ser cualquier elemento o compuesto comúnmente conocido en la materia que pierde (o "dona") un electrón a otra especie química en una reacción química redox, incluyendo, pero no limitada a reactivos hidruro, hidrógeno elemental, reactivos silano, reactivos de éster de Hantzsch y similares. Los agentes reductores adecuado incluyen, H₂ y éster de Hantzsch En algunas realizaciones, es conveniente poner en contacto el agente de reducción en presencia de un catalizador, tal como un catalizador de iridio, un catalizador de rutenio, un catalizador de rodio, un catalizador de paladio o similares. Un experto en la materia apreciará que el catalizador puede ser cualquier sistema de catalizadores conocido en la materia que es capaz de promover la reducción de una sal de iminio a una amina. En algunas realizaciones, el catalizador es y [(R,R)-Me-DuPHOS)-Rh-(COD)]BF₄. En algunas realizaciones, el agente de reducción en el paso (b) del Método D es H₂ en presencia de [(R,R)-Me-DuPHOS)-Rh-(COD)] BF₄. En algunas realizaciones, el H₂ se aplica en de alrededor de 13,7895 KPa (2 psi) a 689,476 KPa (100 psi). En algunas realizaciones, el H₂ se aplica a alrededor de 620,528 KPa (90 psi).

45 En algunas realizaciones, el paso (b) del Método D puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente prótico polar, tal como un disolvente de alcohol. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH y similares. En algunas realizaciones, el disolvente prótico polar es MeOH. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método D puede llevarse a cabo en presencia de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el disolvente aprótico polar es DCM. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método D puede llevarse a cabo en una mezcla de un disolvente prótico polar y un disolvente aprótico polar. En algunas realizaciones, el paso (b) del Método D puede llevarse a cabo en una mezcla de un DCM y MeOH.

50 En algunas realizaciones, el paso (c) del Método D puede llevarse a cabo bajo condiciones adecuadas para eliminar uno de los grupos PG en un compuesto de la fórmula B-9, mientras que el otro grupo PG permanece intacto. En el paso (c) del Método D, la base inorgánica puede ser cualquier base inorgánica, tal como una base de carbonato o un hidróxido. Las bases hidróxido adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hidróxido de sodio, hidróxido de litio y similares. Las bases carbonato adecuadas incluyen, pero no se limitan a, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio,

55

carbonato de sodio y similares. En algunas realizaciones, la base inorgánica se selecciona de carbonato de potasio. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método D puede realizarse en presencia de un disolvente prótico polar, un disolvente aprótico polar o una mezcla de los mismos. Los disolventes próticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a, MeOH, EtOH, iPrOH, n-BuOH, sec-BuOH, H₂O y similares. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen, pero no se limitan a THF, 2-metil-THF, Et₂O DCM, EtOAc, DMF, CH₃CN, acetona, HMPT, DMSO y similares. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método D puede llevarse a cabo en MeOH. En algunas realizaciones, el paso (c) del Método D puede llevarse a cabo a una temperatura de alrededor de 30 °C a alrededor de 100 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es alrededor de 50 °C. En algunas realizaciones, R³ y R⁴ son, cada uno, metilo. En algunas realizaciones, una PG es Boc y un PG es trifluoroacetilo.

Ejemplos

Los ejemplos y preparados proporcionados a continuación ilustran y ejemplifican adicionalmente aspectos particulares de las realizaciones de la divulgación. Debe entenderse que el ámbito de la presente divulgación no se limita en modo alguno por el ámbito de los siguientes ejemplos.

Abreviaturas

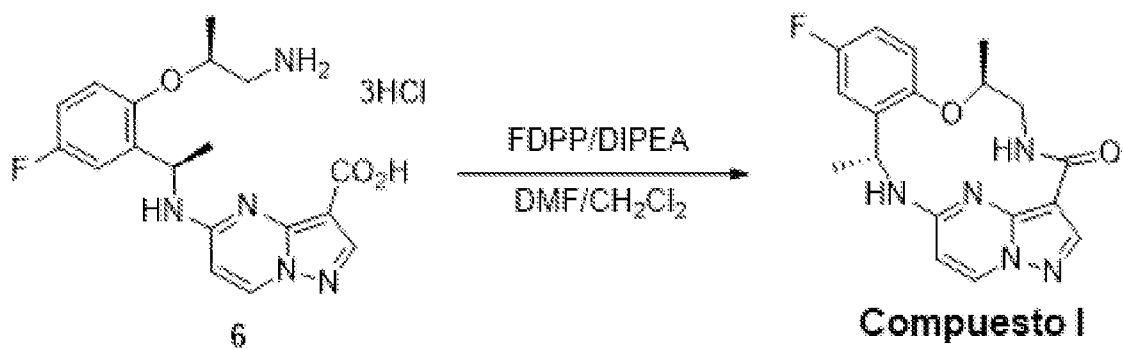
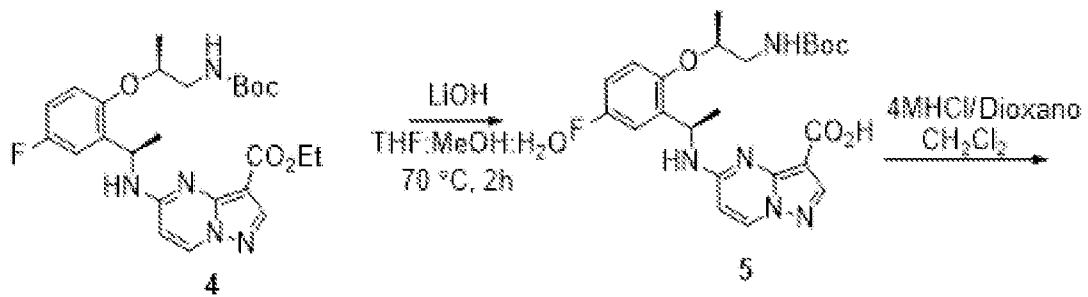
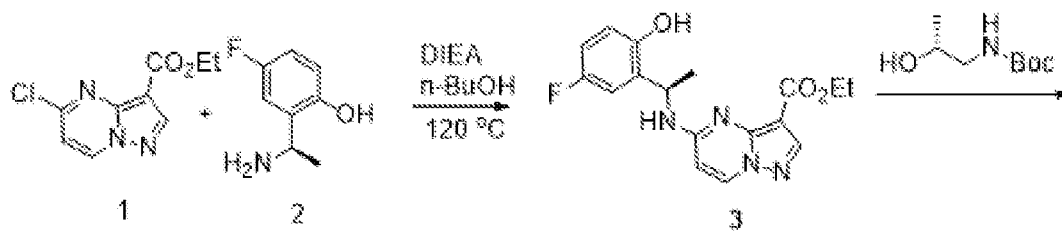
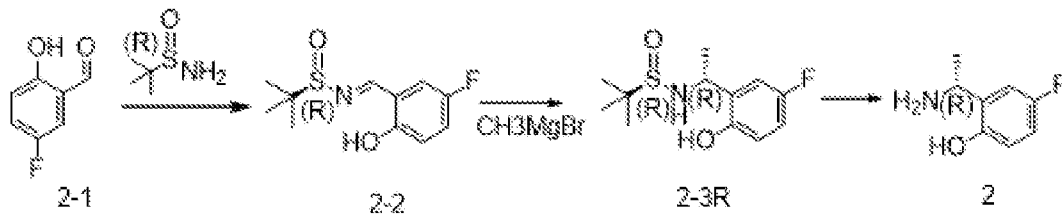
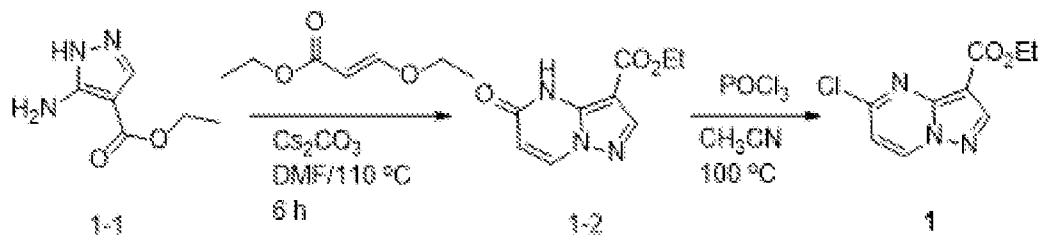
Los ejemplos descritos en el presente documento utilizan materiales que incluyen, pero sin limitación, los descritos por las siguientes abreviaturas conocidas por los expertos en la materia:

g	gramos
eq	equivalentes
mmol	milimol
mol	moles
ml	mililitros
L	litros
psi	libras por pulgada cuadrada
EtOAc o EA	etilacetato
MeCN	acetronitrilo
DCM	diclorometano
MTBE	metil <i>tert</i> -butil éter
DEAD	Azodicarboxilato de dietilo
DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
[Ir(COD)Cl] ₂	bis(1,5-ciclooctadieno)di- μ -clorodisiridio(I)
[(<i>R,R</i>)-Me-DuPHOS]-Rh-(COD)] BF ₄	Tetrafluoroborato de 1,2-Bis((2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,5-dimetilfosfolano)-benceno(ciclooctadieno)Rodio(I)
MHz	mega Hertz
δ	Desplazamiento químico
THF	tetrahidrofurano
PE	Éter de petróleo
R _f	factor de retraso
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
CDCl ₃	cloroformo deuterado
n-BuOH	n-butanol
DIEA o DIPEA o Base de Hunig	N,N-Diisopropiletilamina.
TEA	triethylamina
KHMDS	Bis(trimetilsilil)amida de potasio
TMSCl	cloruro de trimetilsililo
min o mins	minuto o minutos
hrs, hr o h	hora u horas
TLC	Cromatografía en capa fina
M	molar
MS	Espectro de masas
<i>m/z</i>	relación masa a carga
FDPP	pentafluorofenil difenilfosfinato
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	N,N-dimetilformamida
IPC	cromatografía de pares iónicos
LCMS	Espectrometría de masas por cromatografía de líquidos

Síntesis del polimorfo cristalino 1 del Compuesto I

5

El Compuesto I se preparó de acuerdo con el siguiente esquema sintético:



Ejemplo 1: Preparación de 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato (1).

Paso 1: Preparación de 5-oxo-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (1-2)

5 A una mezcla de 5-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (Sigma-Aldrich, 150,00 g, 1,08 mmol) y (E)-3-etoxiprop-2-enoato de etilo (Sigma-Aldrich, 292,16 g, 2,03 mol) en DMF (3,2 l) se añadió Cs₂CO₃ (656,77 g, 2,02 mol) en una porción a 20 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 110 °C durante 6 horas. La TLC (EP:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se completó. La mezcla se enfrió a 20 °C y se filtró a través de una almohadilla de celite. La torta de filtrado se lavó con acetato de etilo (3 x 30 ml). El filtrado se añadió a H₂O (2 l) y se acidificó con HOAc a pH = 4. El precipitado resultante se filtró para generar **1-2** (173,00 g, 834,98 mmol, 86,36 % de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,54 (d, J=7,91 Hz, 1H), 8,12 (s, 1H), 6,13 (d, J=7,91 Hz, 1H), 4,27 (q, J=7,11 Hz, 2H), 1,28 (t, J=7,09 Hz, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato (1)

15 A una mezcla de **1-2** (158,00 g, 762,59 mmol) en MeCN (1,6 l) se añadió POCl₃ (584,64 g, 3,81 mol) a 20 °C en atmósfera de N₂. Se agitó la mezcla a 100 °C durante 2 horas. La TLC (EP:AE = 1:1) mostró que la reacción se completó. La mezcla se enfrió a 20 °C y se vertió en agua con hielo (5000 ml) en porciones a 0 °C y se agitó durante 20 minutos. El precipitado se filtró y se secó para generar **1** (110,00 g, 487,52 mmol, 63,93 % de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,33 (d, J=7,28 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H), 7,41 (d, J=7,15 Hz, 1H), 4,31 (q, J=7,15 Hz, 2H), 1,32 (t, J=7,09 Hz, 3H).

Ejemplo 2: Preparación de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2).

25 Paso 1: Preparación de (R)-N-(5-fluoro-2-hidroxibencilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida (2-2)

A una solución de (R)-2-metilpropano-2-sulfinamida (Sigma-Aldrich, 150,00 g, 1,24 mol, 1,00 eq.) y 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (**2-1**) (Sigma-Aldrich, 173,74 g, 1,24 mol, 1,00 eq.) en DCM (2,00 l) se añadió Cs₂CO₃ (646,43 g, 1,98 mol, 1,60 eq.). La mezcla se agitó a 16 °C durante 16 horas. La TLC (EP:EtOAc = 5:1) mostró que la reacción se completó. La mezcla de reacción se inactivó por la adición de H₂O (1000 ml) a 0 °C y luego se extrajo con EtOAc (500 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina (1000 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar **2-2** (230,00 g, 945,33 mmol, 76,24 % de rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8,64 (s, 1H), 7,22 - 7,11 (m, 2H), 7,03 - 6,95 (m, 1H), 1,28 (s, 9H).

35 Paso 2: Preparación de (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (2-3R)

A una solución de (R)-N-(5-fluoro-2-hidroxibencilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida (**2-2**) (200,00 g, 822,03 mmol, 1,00 eq.) en THF (2,5 l) se añadió MeMgBr (490,09 g, 4,11 mol, 5,00 eq.) por goteo a -65 °C en atmósfera de N₂ en un periodo de 30 min. Entonces, se calentó la mezcla a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La TLC (EP:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se completó con la producción de dos diastereoisómeros. La mezcla de reacción se inactivó por la adición de H₂O (2 l) a 0 °C y la mezcla se extrajo con EtOAc (500 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina (500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para generar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, Éter de petróleo/acetato de etilo = 50/1 a 1:1) para dar (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (**2-3R**) (125 g, la parte superior, punto menos polar con Rf: 0,5, EP:AE = 1:1). ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 9,17 (s, 1H), 6,68 (dd, J=3,0, 8,8 Hz, 1H), 6,47 (dt, J=3,0, 8,4 Hz, 1H), 6,31 (dd, J=4,8, 8,8 Hz, 1H), 5,11 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,28 (quin., J=7,2 Hz, 1H), 1,43 (d, J=6,8 Hz, 3H), 1,20 (s, 9H).

Paso 3: Preparación de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2)

50 Una solución de (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (**2-3R**) (125 g, mmol, 481,99, 1,00 eq.) en HCl/dioxano (1,5 l, 4 N) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La TLC (EP:EtOAc = 2:1) mostró que la reacción se completó. La mezcla se filtró para dar la sal HCl de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (**2**) (85 g, 443,56 mmol, 90,03 % de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H RMN (d-DMSO, 400 MHz) δ: 10,24 (s, 1H), 8,48 (s a, 3H), 7,31 (dd, J=2,9, 9,7 Hz, 1H), 7,05 - 6,99 (m, 1H), 6,98 - 6,93 (m, 1H), 4,59 - 4,45 (m, 1H), 1,46 (d, J=6,8 Hz, 3H).

Ejemplo 3: Preparación de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecín-4(5H)-ona (Compuesto 1).

60 Paso 1: Preparación de (R)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (3)

A una solución de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (**2**) (85 g, 443,56 mmol, 1,00 eq.) y 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**1**) (100,08 g, 443,56 mmol, 1,00 eq.) en n-BuOH (2 l) se añadió DIEA (343,96 g, 2,66 mol, 6,00 eq.). La mezcla se agitó a 120 °C durante 2 horas. La TLC (EP:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se completó. La mezcla de reacción resultante se diluyó con H₂O (500 ml) a 16 °C y se extrajo con EtOAc (500 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina (500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron

a presión reducida para generar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 1:3) para dar (*R*)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**3**) (122 g, 349,34 mmol, 78,76 % de rendimiento, ee >99 % de pureza) como un sólido blanco. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 9,28 (s a, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,14 (d, *J*=7,5 Hz, 1H), 6,95 - 6,89 (m, 2H), 6,87 - 6,80 (m, 1H), 6,18 (d, *J*=7,5 Hz, 1H), 5,98 (d, *J*=8,3 Hz, 1H), 5,71 - 5,54 (m, 1H), 4,50 - 4,35 (m, 2H), 1,60 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,42 (t, *J*=7,2 Hz, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**4**)

Una mezcla de (*R*)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**3**) (10,00 g, 29,04 mmol) y (*R*)-(2-hidroxipropil)carbamato de *tert*-butilo (Combi-Blocks, 7,63 g, 43,56 mmol) se secó azeotrópicamente con DCM/tolueno y después se redisolvió en DCM (11,62 ml). A la solución se le añadió PPh₃ (11,43 g, 43,56 mmol) y la mezcla se agitó hasta que los materiales de partida se disolvieron completamente. A la solución se le añadió DEAD (8,81 g, 43,56 mmol) durante 5 minutos con la mezclada. La reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (125 ml), seguido por la adición de solución acuosa de NaOH (2 M, 100 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 12 horas y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo más con DCM (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con solución salina (50 ml), se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía ultrarrápida (sistema Teledyne ISCO, sílice (330 g), acetato de etilo al 0-40 % en hexano para proporcionar 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**4**) (8,88 g, 60,9 % de rendimiento). LC-MS *m/z* 502,2 (M+H)⁺. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 8,24 (s, 1H), 8,21 (d, *J*=7,6 Hz, 1H), 7,04 (d, *J*=8,4 Hz, 1H), 6,87 (d, *J*=6,0 Hz, 2H), 6,13 (d, *J*=7,2 Hz, 1H), 5,91 (s a, 1H), 4,58 (d, *J*=3,6 Hz, 1H), 4,43 - 4,28 (m, 2H), 3,52 - 3,34 (m, 2H), 1,54 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,47 - 1,36 (m, 12H), 1,30 (d, *J*=6,4 Hz, 3H).

Paso 3: Preparación de ácido 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxílico (**5**)

A una solución de 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxilato de etilo (**4**) (6,98 g, 13,92 mmol, 1 eq.) en metanol (65 ml) y THF (20 ml) se le añadió LiOH (2 M, 47,9 ml, 95,8 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C durante 3 horas, se enfrió a temperatura ambiente y luego se inactivó con HCl acuoso (2 M, 95,8 ml) para ajustar el pH <5. Se extrajo la mezcla de reacción con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, evaporación y secado al alto vacío, se obtuvo un sólido blanco de ácido 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxílico (**5**), que se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional. LC-MS *m/z* 474,2 (M+H)⁺.

Paso 4: Preparación de ácido 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-aminopropan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxílico (**6**)

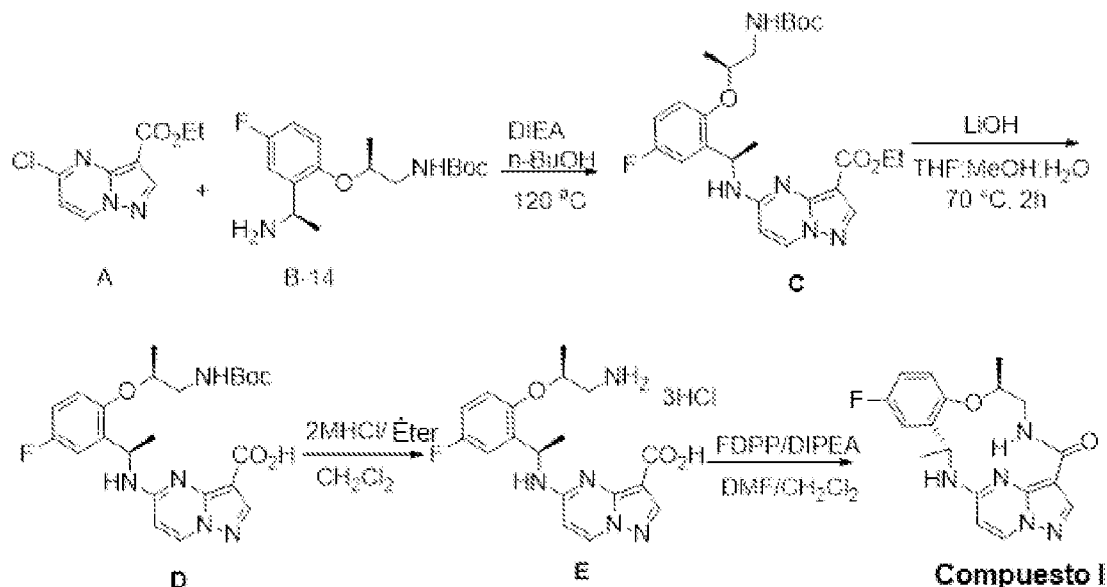
A una solución de ácido 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxílico (**5**) (6,59 g, 13,92 mmol) en CH₂Cl₂ (130 ml) se le añadió HCl en dioxano (4 M, 30,4 ml). Se mantuvo a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que la reacción mostró estar completa por LC-MS. La mezcla de reacción se concentró y se secó al alto vacío para proporcionar el compuesto **6** como un sólido blanco que se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional. LC-MS *m/z* 374,2 (M+H)⁺.

Paso 5: Preparación de (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*ff*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5*H*)-ona (Compuesto I).

Se disolvió ácido 5-(((*R*)-1-(2-(((*S*)-1-aminopropan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-*a*]pirimidina-3-carboxílico (**6**) (5,20 g, 13,93 mmol) en DMF (75 ml) para preparar la Solución A. A una solución de base de Hunig (DIPEA) (14,40 g, 111,4 mmol) en DMF (150 ml) y DCM (350 ml) se le añadieron secuencialmente la solución A (25 ml) y un tercio del FDPP total (5,62 g, 14,63 mmol). La reacción se agitó durante 1 hora y la LC-MS mostró que la reacción de acoplamiento se había completado. El mismo proceso se repitió 2 veces más. La solución final se agitó a temperatura ambiente durante 63 horas (o hasta que la reacción demostró estar completada por LC-MS). Se inactivó la reacción mediante la adición de solución acuosa de Na₂CO₃ (2 M, 150 ml), y la mezcla se agitó durante 15 min y se extrajo con DCM (3 x 150 ml). Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄, se concentraron a presión reducida y se purificaron en una cromatografía ultrarrápida (sistema Teledyne ISCO, sílice (220 g), 0-7,5 % de metanol en diclorometano) para proporcionar (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*ff*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5*H*)-ona (**Compuesto I**) (4,38 g, 12,33 mmol, 88,5 % de rendimiento) como un sólido blanco. LC-MS: *m/z* [M+H]⁺ 356,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: ppm 9,82 (dd, *J*=8,02, 2,29 Hz, 1 H), 8,81 (d, *J*=6,87 Hz, 1 H), 8,58 (d, *J*=7,45 Hz, 1 H), 8,04 (s, 1 H), 7,12 (dd, *J*=9,45, 3,15 Hz, 1 H), 6,99 - 7,05 (m, 1 H), 6,94 - 6,99 (m, 1 H), 6,36 (d, *J*=7,45 Hz, 1 H), 5,53 (m, 1 H), 4,45 - 4,52 (m, 1 H), 3,90 (ddd, *J*=13,46, 8,31, 4,01 Hz, 1 H), 3,10 - 3,17 (m, 1 H), 1,46 (d, *J*=6,30 Hz, 3 H), 1,44 (d, *J*=7,45 Hz, 3 H).

Ejemplo 4: Formación de la forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I.

El compuesto I sólido (5,55 g), obtenido directamente de las fracciones de purificación del Ejemplo 3, Paso 5, se disolvió nuevamente en AE:DCM:MeOH (200:150:40) y la solución se concentró a un volumen de ~70 ml para eliminar la mayor parte del DCM y el metanol. Se formó un sólido cristalino de color blanco. El sólido cristalino blanco se filtró para proporcionar una forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I. Anál. calc. para C₁₈H₁₈N₅O₂: C, 60,84; H, 5,11; N, 19,71. Encontrado: C, 60,54; H, 5,48; N, 19,88.

Síntesis a gran escala del Compuesto I

10

Ejemplo 5: Síntesis del Compuesto C

A una solución de A (126,40 g, 560,22 mmol, 1,00 eq.) y B-14 (175,00 g, 560,22 mmol, 1,00 eq.) en n-BuOH (1,70 l) se le añadió DIEA (485,09 g mol 3,75 ml, 655,53 ml, 6,70 eq.) a 25 °C. La mezcla se agitó a 120 °C durante 5 h. La LCMS mostró que el material de partida se consumió totalmente. Se eliminó el disolvente y se añadió agua (1 l) a los residuos y después se diluyó con EtOAc (1 l) y se extrajo con EtOAc (2 L x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina (1 l), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo=10/1 a 1:1) para dar el Compuesto C (174,00 g, 346,92 mmol, 61,93 % de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: m/z 502,2 (M+H⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ: 8,22 (s, 1H), 8,19 (d, J=7,6 Hz, 1H), 7,04 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,86 (d, J=5,2 Hz, 2H), 6,14 (d, J=6,4 Hz, 1H), 6,06 (s a, 1H), 5,52 (s a, 2H), 4,57 (d, J=3,2 Hz, 1H), 4,40 - 4,28 (m, 2H), 3,51 - 3,31 (m, 2H), 1,53 (d, J=6,8 Hz, 3H), 1,47 - 1,32 (m, 12H), 1,29 (d, J=6,0 Hz, 3H).

25

Ejemplo 6: Síntesis del Compuesto D

A una solución de 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((terc-butoxicarbonyl)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato (C) (140,00 g, 279,13 mmol, 1 eq.) en metanol (644 ml) y THF (252 ml) se le añadió LiOH acuoso (3,3 M, 504 ml, 1,6632 mol, 5,95 eq.). La solución clara se calentó a 70 °C durante 2,5 horas. La reacción se enfrió en baño de hielo y luego se inactivó con HCl ac. (3,3 M, 504 ml) para ajustar el pH <5. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (1 l y 2 x 500 ml). Los extractos combinados se lavaron con solución salina y se secaron sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, evaporación y secado a alto vacío, se obtuvo un sólido blanco de ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((ter-butoxicarbonyl)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxílico (D) (140,78 gramos). El producto se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

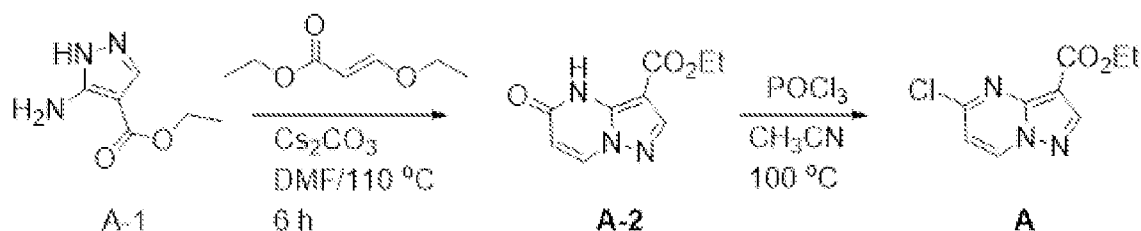
35

Ejemplo 7: Síntesis del Compuesto E

A una solución de 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((terc-butoxicarbonyl)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-ácido carboxílico (D) (132,17 g, 279,13 mmol) en CH₂Cl₂ (659 ml) se le añadió HCl en éter dietílico (2 M, 497 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas, se añadió más cantidad de solución de éter dietílico HCl (2 M, 100 ml) y se agitó durante 5 horas. El producto sólido se filtró y se lavó con éter dietílico y se secó al alto vacío para proporcionar el compuesto E como sal 3HCl que se utilizó directamente en el siguiente paso.

Ejemplo 8: Síntesis del Compuesto I a partir del Compuesto E

5-(((R)-1-(2-(((S)-1-aminopropan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-ácido carboxílico (**E**) (208 g, 557,07 mmol) (obtenido de 280 gramos de **C**) se disolvió en DMF (1,1 l) y Base de Hunig (300 ml) para preparar la solución A (~1700 ml). Se añadieron DMF (608 ml), DCM (3,19 l) y base de Hunig (500 ml), respectivamente a dos matraces de reacción de 4 l. A cada matraz de reacción se le añadió la solución A (160 ml) seguido por la adición de FDPP (20 g, 36,61 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una hora y la LCMS mostró el consumo completo del compuesto **E**. El mismo proceso se repite hasta que toda la solución A se añadió a los dos matraces de reacción. Después de la última adición, se añadió más cantidad de FDPP (10 gramos) a cada matraz y las soluciones finales se agitaron a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción de un matraz de reacción se concentró hasta 1,5 l y luego se diluyó con DCM (4 l) y se lavó con solución acuosa de Na₂CO₃ (2 M, 3 l). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 700 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa de Na₂CO₃ (1 M, 2 l) y agua (2 l) y se secaron con Na₂SO₄. Se aplicó el mismo procedimiento de elaboración en el segundo matraz de reacción. Las soluciones combinadas se filtraron y se concentraron a presión reducida a un volumen de ~600 ml. Se observó una gran cantidad de precipitado durante la concentración, que se agitó a 0 °C durante 0,5 h y luego se filtró para proporcionar un producto sólido (145 gramos). El filtrado se condensó a sequedad y el residuo se disolvió nuevamente en DCM (1 l) y se lavó con solución acuosa de HCl (0,4 M, 500 ml), Na₂CO₃ (2 M, 1 l) y agua (1 l) y se secó con Na₂SO₄. Después de la filtración, la solución se concentró a ~100 ml y el sólido se precipitó, se filtró y se lavó con éter dietílico (50 ml) para proporcionar más cantidad de producto (10,7 gramos). El sólido combinado se disolvió nuevamente en metanol al 10 % en DCM (2 l) y se filtró para obtener una solución clara que se diluyó adicionalmente con metanol (500 ml). La solución se concentró a presión reducida a ~400 ml y se enfrió a 0 °C durante 1 hora. El sólido se filtró y lavó con metanol frío (2 x 60 ml) y éter dietílico (2 x 75 ml) y se secó al alto vacío para proporcionar (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]-benzoxatriazacitridodecín-4(5H)-ona (**Compuesto I**) (145,302 g). El filtrado se concentró hasta ~120 ml y luego se enfrió a 0 °C durante 30 minutos para proporcionar una segunda cosecha (4,815 gramos). Se obtuvieron un total de 150,12 gramos (75,8 % de rendimiento para tres pasos: hidrólisis, de-boc y ciclación) del (**Compuesto I**) con una pureza > 98 %. LC-MS: *m/z* [M+H]⁺ 356,2. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: ppm 9,82 (dd, *J*=8,02, 2,29 Hz, 1 H), 8,81 (d, *J*=6,87 Hz, 1 H), 8,58 (d, *J*=7,45 Hz, 1 H), 8,04 (s, 1 H), 7,12 (dd, *J*=9,45, 3,15 Hz, 1 H), 6,99 - 7,05 (m, 1 H), 6,94 - 6,99 (m, 1 H), 6,36 (d, *J*=7,45 Hz, 1 H), 5,53 (m, 1 H), 4,45 - 4,52 (m, 1 H), 3,90 (ddd, *J*=13,46, 8,31, 4,01 Hz, 1 H), 3,10 - 3,17 (m, 1 H), 1,46 (d, *J*=6,30 Hz, 3 H), 1,44 (d, *J*=7,45 Hz, 3 H).

Síntesis del Compuesto A

35

Ejemplo 9: Preparación de 5-oxo-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (A-2)

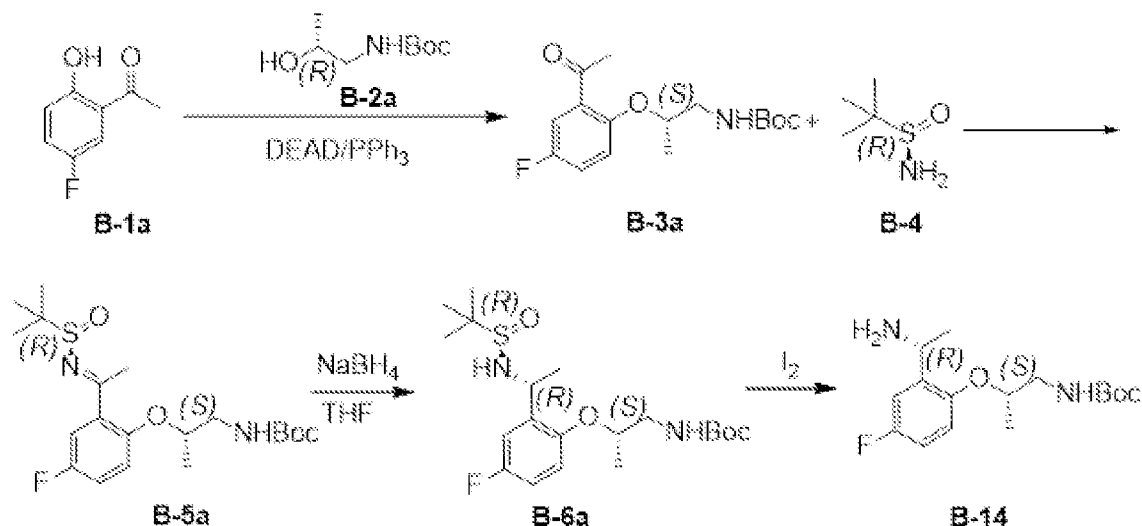
Éster etílico del ácido 3-amino-1H-pirazol-4-carboxílico (**A-1**) (Langchem Inc, 2,0 kg, 12,9 mol) se cargó en un reactor con camisa calefactora de 50 l. Después, se añadió DMF (grado industrial, 20 l) seguido de 3-etoxiacrilato de etilo (LightChem, 3,5 kg, 24,5 mol, 1,9 eq.) y Cs₂CO₃ (NuoTai Chem, 8,0 kg, 24,5 mol, 1,9 eq.). La mezcla de reacción se calentó a 110~115 °C durante 40 min y se agitó en esta temperatura durante la noche. IPC por LCMS mostró que casi todos los materiales de partida se habían consumido. Después, la solución se enfrió a temperatura ambiente durante 1 hora para producir una mezcla. El sólido resultante se recogió por filtración y se lavó con EtOAc (6 l). El sólido se recogió y se disolvió en agua (20 l). Después, la solución se acidificó con ácido acético glacial (6,5 l) a pH 4. No se observó ningún proceso exotérmico durante la acidificación. El sólido resultante se recogió por filtración y se lavó con agua (10 ml). El sólido se secó a 50 °C al vacío durante 15 h para dar **A-2** (2,3 kg, >99,9 %, 87 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8,54 (d, *J*=7,91 Hz, 1H), 8,12 (s, 1H), 6,13 (d, *J*=7,91 Hz, 1H), 4,27 (q, *J*=7,11 Hz, 2H), 1,28 (t, *J*=7,09 Hz, 3H).

Ejemplo 10: Preparación de 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato (A)

A-2 (2,3 kg, 11,1 mol) se cargó en un reactor con camisa calefactora de 50 l. Se añadió MeCN (grado industrial, 23 l) y se enfrió a 15~20 °C con agitación. Se añadió POCl₃ puro (8,5 kg, 55,5 mol, 5,0 eq.) a la mezcla durante 10 minutos sin cambio de temperatura del reactor. La mezcla de reacción se calentó a 100~105 °C durante 1 hora y luego se agitó a esta temperatura durante 2 h. IPC por LCMS mostró que el material de partida se había consumido. Después, la solución de reacción se transfirió a un reactor con camisa calefactora de 100 l que contenía agua con hielo (50 l, 5 °C) durante 1 hora. Se controló la velocidad de adición se controló por lo que no se dejó que la reacción exotérmica superara una temperatura interna de 30 °C. La mezcla resultante se agitó a 15-20 °C durante 30 minutos. El sólido

que se formó se filtró y se secó a 45 °C al vacío durante 36 h para dar **A** (1,8 kg, pura al 99,9 % por LCMS, 72 % de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,33 (d, *J*=7,28 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H), 7,41 (d, *J*=7,15 Hz, 1H), 4,31 (q, *J*=7,15 Hz, 2H), 1,32 (t, *J*=7,09 Hz, 3H).

5 Síntesis del Compuesto B-Método A



Ejemplo 11: Preparación de (R)-(2-hidroxipropil)carbamato de terc-butilo (B-2a)

10 A una solución de (R)-1-aminopropan-2-ol (600,00 g, 7,99 mol, 631,58 ml, 1,00 eq.) y TEA (808,33 g, 7,99 mol, 1,11 l, 1,00 eq.) en DCM (3,00 l) se le añadió (Boc)₂O (1,74 kg, 7,99 mol, 1,84 l, 1,00 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C en atmósfera de N₂ durante 5 horas. La TLC mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se dividió entre NaHCO₃ saturado (500 ml) y DCM (1 l) y luego se lavó con solución salina (1 l). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó para dar el compuesto B-2a (1,37 kg, 7,82 mol, 97,86 % de rendimiento) como un aceite. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ: 5,00 (s a, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,25 (dd, *J*=2,8, 10,4 Hz, 1H), 3,00 (td, *J*=6,8, 13,6 Hz, 1H), 2,71 - 2,50 (m, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,17 (d, *J*=6,4 Hz, 3H).

Ejemplo 12: Preparación de (S)-(2-(2-acetil-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de terc-butilo (B-3a)

20 A una solución de **B-1a** (500,00 g, 3,24 mol, 1,00 eq.), **B-2a** (851,57 g, 4,86 mol, 1,50 eq.) y PPh₃ (1,27 kg, 4,86 mol, 1,50 eq.) en diclorometano (1,5 l) se le añadió DEAD (902,79 g, 5,18 mol, 940,41 ml, 1,60 eq.) gota a gota a 0 °C. La solución se agitó a 25 °C durante 4 horas. La TLC indicó que se detectó una nueva mancha importante con mayor polaridad, y el material de partida se consumió totalmente. Se añadió éter de petróleo (1,5 l) a la mezcla, luego el sólido se filtró, el disolvente se eliminó del filtrado y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato etílico = 20/1 a 10:1) para dar **B-3a** (680,00 g, 2,18 mol, 67,28 % de rendimiento) como un aceite de color rojo. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ: 7,38 (dd, *J*=3,2, 8,8 Hz, 1H), 7,13 (ddd, *J*=3,2, 7,2, 8,8 Hz, 1H), 6,97 (dd, *J*=4,0, 8,8 Hz, 1H), 5,06 (s a, 1H), 4,63 - 4,52 (m, 1H), 3,52 - 3,39 (m, 1H), 3,38 - 3,27 (m, 1H), 2,59 (s, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,32 (d, *J*=6,4 Hz, 3H).

Ejemplo 13: Preparación de ((S)-2-(2-((E)-1-(((R)-terc-butilsulfinil)imino)-etil)-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de terc-butilo (B-5a)

35 A una mezcla de **B-4** (219,98 g, 1,82 mol, 1,50 eq.) diglima (162,35 g, 1,21 mol, 172,71 ml, 1,00 eq.) y **B-3a** (376,00 g, 1,21 mol, 1,00 eq.) en THF (1,88 l) y 2-metiltetrahidrofurano (1,88 l) se le añadió tetraetoxititanio (552,03 g, 2,42 mol, 501,85 ml, 2,00 eq.) en una porción a 20 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 60 °C durante 12 horas. La TLC mostró alrededor del 15 % de material de partida restante. La mezcla se enfrió a 20 °C. Se añadió agua (2 l). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2000 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con solución salina saturada (1 l), se secó sobre anhidro Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para dar **B-5a** (520,00 g, crudo) como un aceite rojo que se utiliza para el siguiente paso sin purificación adicional.

Ejemplo 14: Preparación de ((S)-2-(2-((R)-1-(((R)-terc-butilsulfinil)amino)-etil)-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de terc-butilo (B-6a)

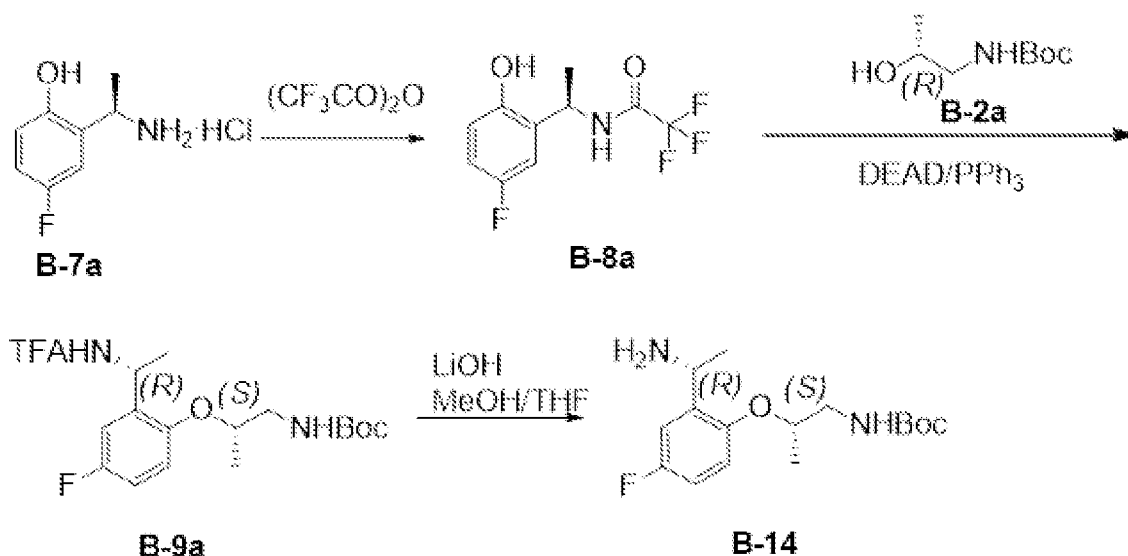
45 A una solución de **B-5a** (520,00 g, 1,25 mol, 1,00 eq.) en THF/H₂O (3,82 l/78 ml) se le añadió NaBH₄ (142,37 g, 3,76 mol, 3,00 eq.) a -50 °C, la reacción se calentó a 25 °C y luego se agitó a 25 °C durante 12 horas. La TLC mostró que el material de partida se consumió totalmente. Se añadió agua (1 l) a la mezcla y se extrajo con EtOAc (2 l x 2). La

capa orgánica se lavó con NaCl saturado (1 l) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se extrajo y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 10:1) para dar **B-6a** (270,00 g, 570,40 mmol, 45,47 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 7,06 (dd, *J*=3,2, 9,2 Hz, 1H), 6,95 (dt, *J*=3,2, 8,4 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J*=4,4, 9,2 Hz, 1H), 6,70 (s a, 1H), 4,93 (d, *J*=6,0 Hz, 1H), 4,57 - 4,46 (m, 1H), 3,68 - 3,65 (m, 1H), 3,59 - 3,57 (m, 1H), 3,22 - 3,10 (m, 1H), 1,47 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,40 (s, 9H), 1,27 - 1,25 (m, 3H), 1,22 (s, 9H).

Ejemplo 15: Preparación de ((S)-2-(2-((R)-1-aminoetil)-4-fluorofenoxi)-propil)carbamato de terc-butilo (B-14)

A una solución de **B-6a** (270,00 g, 570,40 mmol, 1,00 eq.) y yodo molecular (28,95 g, 114,08 mmol, 22,98 ml, 0,20 eq.) en THF (2,16 l) se le añadió H₂O (540,00 ml) a 25 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 horas. La TLC mostró que el material de partida se consumió completamente. La mezcla se concentró para dar **B-14** (330,00 g, crudo) como un sólido blanco. LCMS: *m/z* 313,2 (M+H⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 7,08 (dd, *J*=2,8, 9,4 Hz, 1H), 6,91 - 6,79 (m, 2H), 5,72 (s a, 1H), 4,55 - 4,32 (m, 2H), 3,52 - 3,41 (m, 1H), 3,31 - 3,19 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,38 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,29 (d, *J*=6,0 Hz, 3H).

Síntesis del Compuesto B-14 — Método B



Ejemplo 16: Preparación de (R)-2,2,2-trifluoro-N-(1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)-etil)acetamida (B-8a)

A una solución de clorhidrato de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (NetChem, 1,00 g, 5,22 mmol) y trietilamina (1,58 g, 15,66 mmol) en DCM (26,10 ml) a 0 °C se le añadió anhídrido trifluoroacético (1,26 g, 6,00 mmol) gota a gota. La solución de reacción se agitó durante 2 horas a 0 °C y luego se inactivó mediante la adición a solución acuosa de HCl 0,5 M (100 ml). La mezcla se extrajo con DCM (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con solución de HCl 0,5 M (2 x 50 ml), agua (100 ml) y solución salina (50 ml), se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida para proporcionar **B-8a** (1,203 g, 91,5 % de rendimiento). LCMS: *m/z* 252 (M+H⁺).

Ejemplo 17: Preparación de ((S)-2-(4-fluoro-2-((R)-1-(2,2,2-trifluoroacetamido)etil)fenoxi)propil)carbamato de terc-butilo (B-9a)

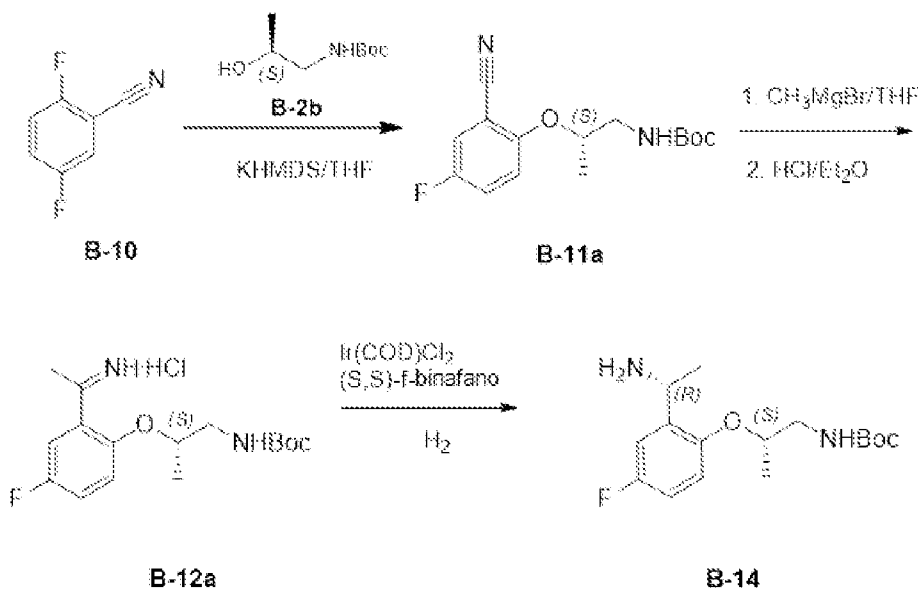
La mezcla de (R)-2,2,2-trifluoro-N-(1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)acetamida (1,20 g, 4,78 mmol) y (R)-2-(2-hidroxipropil)carbamato de terc-butilo (1,68 g, 9,56 mmol) se secó azeotrópicamente junto con DCM:tolueno. Entonces, el residuo se disolvió de nuevo en DCM (2,00 ml) y se añadió PPh₃ (2,57 g, 9,80 mmol) a la solución. La mezcla se agitó hasta que todos los reactivos se disolvieron por completo. La solución se enfrió a 0 °C y se añadió muy lentamente DIAD (1,98 g, 9,80 mmol) con mezclado. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas, y luego se calentó a 35 °C y se agitó durante 16 horas. La mezcla se concentró a presión reducida y se utilizó en el siguiente paso sin purificación. LCMS: *m/z* 431 (M+Na⁺).

Ejemplo 18: Preparación de ((S)-2-(2-((R)-1-aminoetil)-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de terc-butilo (B-14)

A una solución de ((S)-2-(4-fluoro-2-((R)-1-(2,2,2-trifluoroacetamido)etil)fenoxi)propil)carbamato de terc-butilo crudo (1,95 g, 4,77 mmol) en MeOH (15 ml) y THF (5 ml) se le añadió solución acuosa de LiOH 2 M (7,03 ml). La mezcla se calentó a 50 °C durante 6 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (100 ml) y solución de NaOH 2 M (25 ml) y se extrajo con DCM (3 x 75 ml). Los extractos combinados se lavaron con solución de NaOH 2 M (75 ml), se secaron con Na₂SO₄, se concentraron a presión reducida y se secaron al alto vacío. El residuo se disolvió en

1:1 de DCM:Hexano (100 ml) y se extrajo con HCl 0,5 M en 9:1 de agua:MeOH (3 x 60 ml). Los extractos acuosos combinados se lavaron con 1:3 de DCM:Hexano (100 ml), se neutralizaron con solución de NaOH 2 M (100 ml) y se extrajeron con DCM (3 x 100 ml). Los extractos combinados de DCM se secaron con Na₂SO₄, se concentraron a presión reducida y se secaron al alto vacío para proporcionar un sólido blanco B-14 (797,6 mg, 53 % de rendimiento para tres pasos combinados). LCMS: m/z 313,2 (M+H⁺). ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 7,08 (dd, *J*=2,8, 9,4 Hz, 1H), 6,91 - 6,79 (m, 2H), 5,72 (s a, 1H), 4,55 - 4,32 (m, 2H), 3,52 - 3,41 (m, 1H), 3,31 - 3,19 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,38 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,29 (d, *J*=6,0 Hz, 3H).

Síntesis del Compuesto B-14 — Método C



Ejemplo 19: Preparación de (S)-2-(2-ciano-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (B-11a)

A una solución de (S)-2-(2-hidroxipropil)carbamato de *tert*-butilo (1,32 g, 7,55 mmol) y 2,5-difluorobenzonitrilo (Aldrich, 1,00 g, 7,19 mmol) en THF (48 ml) a 0 °C se le añadió KHMDS (1 M, 7,55 ml). La solución de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se concentró, se diluyó con DCM (150 ml), se lavo con HCl 0,1 M (3 x 150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida (sistema ISCO, sílice (24 g), 0-25 % de acetato de etilo en hexano) proporcionó **B-11a** (1,43 g, 4,86 mmol, 67,58 % de rendimiento). LCMS: m/z 317 (M+Na⁺). ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,72 (dd, *J* = 8,31, 3,15 Hz, 1 H), 7,51 - 7,59 (m, 1 H), 7,34 (dd, *J* = 9,45, 4,30 Hz, 1 H), 7,08 (t, *J* = 5,73 Hz, 1 H), 4,58 (sext., *J* = 5,96 Hz, 1 H), 3,15 - 3,25 (m, 1 H), 3,06 - 3,13 (m, 1 H), 1,36 (s, 9 H), 1,24 (d, *J*=5,73 Hz, 3 H).

Ejemplo 20: Preparación de clorhidrato de (S)-2-(2-(4-fluoro-2-(1-iminoetil)fenoxi)propil)-carbamato de *tert*-butilo (B-12a)

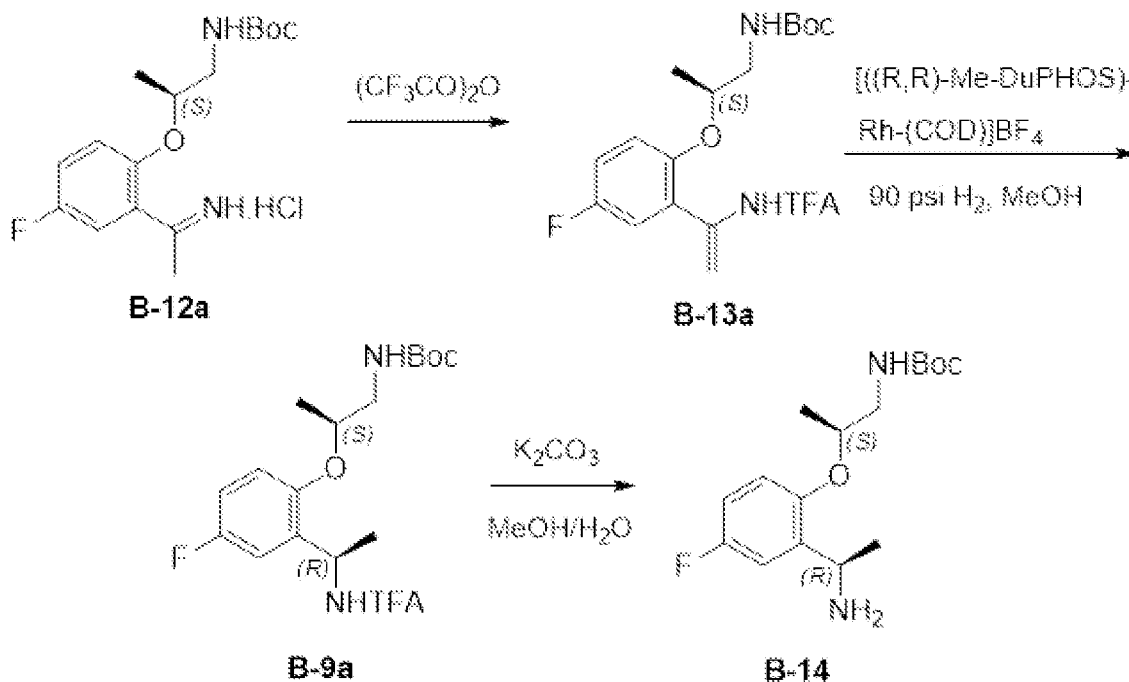
A una solución de (S)-2-(2-ciano-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (100,00 mg, 0,34 mmol) en THF (1,70 ml) se le añadió MeMgBr (3 M, 0,34 ml) a -78 °C. La solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La reacción se inactivó con MeOH (475,20 mg, 14,83 mmol) a -78 °C y luego se calentó a la temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La solución de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite a sequedad a presión reducida y se secó al alto vacío. El residuo se disolvió nuevamente en MTBE:DCM (1:3, 5 ml) y se enfrió a 0 °C, seguido por la adición de solución en éter de HCl (2 M, 0,17 ml). La solución de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Después de la concentración, el residuo se suspendió en MTBE (4 ml) y se filtró. El sólido se lavó con MRBE y se secó al alto vacío para generar **B-12a** (62,7 mg, 52,7 % de rendimiento). LCMS: m/z 334 (M+Na⁺). ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 12,61 (bs, 1H), 11,70 (bs, 1H), 7,77 (dd, *J* = 9,45, 3,15 Hz, 1 H), 7,61 - 7,68 (m, 1 H), 7,43 (dd, *J* = 9,45, 4,30 Hz, 1 H), 7,26 (t, *J* = 5,73 Hz, 1 H), 4,68 - 4,76 (m, 1 H), 3,14 - 3,24 (m, 1 H), 3,13 - 3,25 (m, 1 H), 2,81 (s, 3 H), 1,36 (s, 9 H), 1,25 (d, *J*=6,30 Hz, 3 H).

Ejemplo 21: Preparación de clorhidrato de ((S)-2-(2-((R)-1-aminoetil)-4-fluorofenoxi)-propil)carbamato de *tert*-butilo (B-14)

A una solución bien mezclada de [Ir(COD)Cl]₂ (Strem Chemicals, 2,1 mg, 0,003 mmol) y (S,S)-f-Binafano (Strem Chemicals, 5,1 mg, 0,006 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) se le añadió clorhidrato de (S)-2-(2-(4-fluoro-2-(1-iminoetil)fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (0,3 mmol) en MeOH (2 ml). Después, el recipiente de reacción se colocó en una autoclave de acero. La atmósfera inerte se reemplazó por H₂ y la mezcla de reacción se agitó bajo 10

atmósferas de H₂ (1,03421 MPa (150 psi)) a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla resultante se concentró al vacío y se disolvió en NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 × 2 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y se secó al alto vacío para proporcionar el compuesto **B-14**. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ: 7,08 (dd, *J*=2,8, 9,4 Hz, 1H), 6,91 - 6,79 (m, 2H), 5,72 (s, 1H), 4,55 - 4,32 (m, 2H), 3,52 - 3,41 (m, 1H), 3,31 - 3,19 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,38 (d, *J*=6,8 Hz, 3H), 1,29 (d, *J*=6,0 Hz, 3H).

Síntesis del Compuesto B-14 — Método D



10

Ejemplo 22: Preparación de (S)-2-(4-fluoro-2-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)-vinil)fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (B-13a)

15 Se añadió trietilamina (43,76 mg, 0,432 mmol) a una solución de clorhidrato de (S)-2-(4-fluoro-2-(1-iminoetil)fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (25,00 mg, 0,072 mmol) y anhídrido de trifluoroacético (17,41 mg, 0,083 mmol) en DCM (0,36 ml) a 0 °C. La solución de reacción se agitó durante 3 horas a 0 °C, se inactivó con la adición de HCl acuoso 0,5 M (25 ml) y se extrajo con DCM (150 ml). El extracto se lavó con HCl acuoso 0,5 M (25 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida (sistema ISCO, sílice (12 g), 0-50 % de acetato de etilo en hexano) proporcionó **B-13a** (15,70 mg, 0,038 mmol, 53,60 % de rendimiento). LCMS: *m/z* 429 (M+Na⁺). ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,70 (s, 1 H) 7,13 - 7,22 (m, 1 H) 7,06 - 7,13 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=6,01 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,18 (s, 1 H) 4,42 (q, *J*=6,30 Hz, 1 H) 3,17 (dt, *J*=13,75, 6,01 Hz, 1 H) 2,91 - 3,01 (m, 1 H) 1,35 (s, 9 H) 1,13 (d, *J*=6,30 Hz, 3 H).

25 Ejemplo 23: Preparación de ((S)-2-(4-fluoro-2-((R)-1-(2,2,2-trifluoroacetamido)etil)fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (B-9a)

30 ((S)-2-(4-Fluoro-2-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)vinil)fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (3,00 mmol) y [(R,R)-Me-DuPHOS]-Rh-(COD)]BF₄ (Strem Chemicals, 0,2 mol%) se colocaron en un recipiente de presión de vidrio, que después se purgó tres veces con hidrógeno. Después, se añadió metanol desgasificado (10 ml) y además se purgó el recipiente con hidrógeno y se cargó a 620,5281 KPa (90 psi) de hidrógeno. Después de agitar durante 20 horas, la mezcla de reacción se evaporó para producir un residuo. Este residuo se disolvió en EtOAc (5 ml) y la solución se filtró a través de un tapón de sílice corto para eliminar los residuos de catalizador. Después, el disolvente se evaporó para producir el compuesto **B-9a**.

35

Ejemplo 24: Preparación de clorhidrato de ((S)-2-(2-((R)-1-aminoetil)-4-fluorofenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (B-14)

40 A una solución de ((S)-2-(4-fluoro-2-((R)-1-(2,2,2-trifluoroacetamido)etil)-fenoxi)propil)carbamato de *tert*-butilo (1,00 mmol) en metanol (30 ml) y agua (10 ml) se le añadió K₂CO₃ (3,00 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C hasta que se completó la hidrólisis. La mezcla de reacción se extrajo tres veces con diclorometano (30 ml). Los extractos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, se concentraron y se secaron a alto vacío para generar el

compuesto **B-14**. ^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ : 7,08 (dd, $J=2,8, 9,4$ Hz, 1H), 6,91 - 6,79 (m, 2H), 5,72 (s, 1H), 4,55 - 4,32 (m, 2H), 3,52 - 3,41 (m, 1H), 3,31 - 3,19 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,38 (d, $J=6,8$ Hz, 3H), 1,29 (d, $J=6,0$ Hz, 3H).

5 Ensayo de la forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I

Ejemplo 25: Difracción de rayos X de polvo (PXRD) de la forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto.

10 Una muestra del Compuesto I, polimorfo cristalino forma 1, se pasó por PXRD en un Bruker D8 Advance equipado con un detector de tira de silicio 1-D Lynxeye y radiación Cu (1,54178 Å). La muestra se hizo girar durante la recolección para limitar los picos de orientación preferidos. Los datos se recogieron de 2° - 50° 2θ utilizando un tamaño de paso de $0,02^\circ$ y velocidad de exploración de 0,25 s por paso. Los resultados se muestran en la figura 1.

Ejemplo 26: Calorimetría de barrido diferencial (DSC) de la forma de polimorfo cristalino 1 del Compuesto I.

15 Las mediciones DSC se realizaron utilizando un calorímetro de barrido diferencial Seiko Modelo SSC/5200. Una muestra de 7,16 mg del Compuesto I, polimorfo cristalino forma 1, se equilibró a 30°C y luego se aumentó a 380°C a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. La muestra del Compuesto I, polimorfo cristalino forma 1, mostró un punto de fusión de $345,5^\circ\text{C}$. Los resultados se muestran en la figura 2.

Ejemplos biológicos

Ejemplo 27: Ensayos de enlace de quinasa

25 Los ensayos de enlace de quinasa se realizaron en DiscoverX utilizando el Protocolo KINOMEScan K_d general (Fabian, M. A. et al., "A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors," Nat. Biotechnol. 2005; 23(3):329-36). Para la mayoría de los ensayos, se prepararon cepas de fago T7 etiquetadas con quinasa en un hospedador *E. coli* derivado de la cepa BL21. *E. coli* se cultivó hasta la fase logarítmica, se infectó con el fago T7 y se incubó con agitación a 32°C hasta la lisis. Los lisados se centrifugaron y se filtraron para eliminar los restos celulares.

30 Las quinasas restantes se produjeron en células HEK-293 y posteriormente se marcaron con ADN para la detección por qPCR. Las perlas magnéticas recubiertas de estreptavidina se trataron con ligandos de molécula pequeña biotinilados durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para ensayos de quinasa. Las perlas con ligando se bloquearon con exceso de biotina y se lavaron con tampón de bloqueo (SeaBlock (Pierce), 1 % BSA, 0,05 % Tween 20, 1 mM de DDT) para eliminar el ligando no enlazado y para reducir la unión no específica.

35 Las reacciones de unión se montaron combinando quinasas, perlas de afinidad con ligando y compuestos de ensayo en tampón de unión 1x (20 % SeaBlock, 0,17x PBS, 0,05 % Tween 20, 6 mM DTT). Todas las reacciones se realizaron en placas de 96 pocillos de poliestireno en un volumen final de 0,135 ml. Las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente con agitación durante 1 hora y las perlas de afinidad se lavaron con tampón de lavado (PBS 1 x, 0,05 % Tween 20). Las perlas se resuspendieron en tampón de elución (1x PBS, 0,05 % Tween 20, $0,5\ \mu\text{M}$ de ligando de afinidad no biotinilado) y se incubaron a temperatura ambiente con agitación durante 30 minutos. La concentración de quinasa en los eluidos se midió por qPCR. Con este método, el Compuesto I tenía una afinidad de unión con JAK2 de $K_d = 0,082\ \text{nM}$ y ALK de $K_d = 5,7\ \text{nM}$.

Ejemplo 28: Ensayo de proliferación celular y creación de línea celular estable EML4-ALK Ba/F3.

45 El gen de tipo silvestre EML4-ALK (variante 1) se sintetizó en GenScript y se clonó en plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc.). Se generó la línea celular de tipo silvestre Ba/F3-EML4-ALK al infectar las células Ba/F3 con lentivirus que contenía EML4-ALK de tipo silvestre. Se seleccionaron líneas celulares estables por tratamiento con puomicina, seguido de retirada de IL-3. Se sembraron 5000 células en placa blanca de 384 pocillos durante la noche antes del tratamiento con compuesto. La proliferación celular se midió usando el ensayo de detección de ATP basado en luciferasa CellTiter-Glo (Promega) siguiendo el protocolo del fabricante después de 48 horas de incubación con distintas concentraciones de compuesto. Las determinaciones de IC_{50} se realizaron utilizando el software GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA.). Los datos para el Compuesto I se presentan en la Tabla 2.

Ejemplo 29: Ensayos de proliferación celular

60 Se cultivaron células de la línea celular colorrectal KM 12 (que albergan el gen de fusión TPM3-TRKA endógeno) en medio DMEM, suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Se sembraron 5000 células en una placa blanca de 384 pocillos durante 24 horas antes del tratamiento con los compuestos. La proliferación celular se midió usando el ensayo de detección de ATP basado en luciferasa CellTiter-Glo (Promega) siguiendo el protocolo del fabricante después de 72 horas de incubación. Las determinaciones de IC_{50} se realizaron utilizando el software GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA.).

65 Se cultivaron células de la línea celular colorrectal KM 12 (que albergan el gen de fusión TPM3-TRKA endógeno) en medio DMEM, suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Se cultivaron

ES 2 979 111 T3

5 células SET-2 de la línea celular de trombocitemia esencial (que albergan la mutación puntual JAK2 V618F endógena) o la línea celular Karpas-299 de linfoma de células T (que albergan el gen de fusión NPM-ALK endógeno) en medio RPMI, suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Se sembraron 5000 células en una placa blanca de 384 pocillos durante 24 horas antes del tratamiento de los compuestos. La proliferación celular se midió usando el ensayo de detección de ATP basado en luciferasa CellTiter-Glo (Promega) siguiendo el protocolo del fabricante después de 72 horas de incubación. Las determinaciones de IC₅₀ se realizaron utilizando el software GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

10 Los datos para el Compuesto I se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2

Proliferación de células KM 12 IC ₅₀ (nM)	Proliferación de células SET2 IC ₅₀ (nM)	Proliferación de células Karpas 299 IC ₅₀ (nM)	Proliferación de células EML4-ALK Ba/F3 IC ₅₀ (nM)
0,5	242	23,7	21,1

REIVINDICACIONES

1. Una forma de polimorfo cristalino de la base libre de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahydro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5H)-ona.

2. La forma de polimorfo cristalino de la reivindicación 1, en donde la forma de polimorfo cristalino tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende un pico en un ángulo de difracción (2θ) de $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$; o

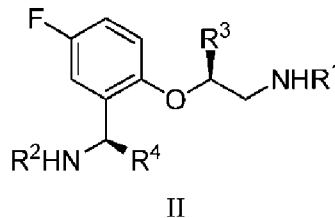
un patrón de difracción de rayos X de polvo que comprende picos en ángulos de difracción (2θ) de $9,4\pm 0,1$, $16,1\pm 0,1$, $16,5\pm 0,1$, $18,8\pm 0,1$, $21,2\pm 0,1$, $22,8\pm 0,1$ y $27,4\pm 0,1$.

3. Una forma de polimorfo cristalino de la reivindicación 1 que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo como se muestra en la Figura 1.

4. La forma de polimorfo cristalino de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) tiene un punto de fusión de aproximadamente $345,5\text{ }^\circ\text{C}$, opcionalmente en donde el termograma de DSC es como se muestra en la Figura 2.

5. Una composición farmacéutica que comprende la forma de polimorfo cristalino de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

6. Un compuesto de la fórmula II



en donde R^1 y R^2 son H o PG cada uno de manera independiente, en donde PG se selecciona del grupo que consiste en Fmoc, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, y R^3 y R^4 son alquilo C_1 - C_4 cada uno de manera independiente.

7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R^1 y R^2 son PG.

8. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R^2 es H.

9. El compuesto de la reivindicación 6 o 8, en donde R^1 es H.

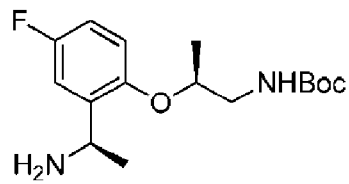
10. El compuesto de la reivindicación 6 o 8, en donde R^1 es PG.

11. El compuesto de la reivindicación 6 o 9, en donde R^2 es PG.

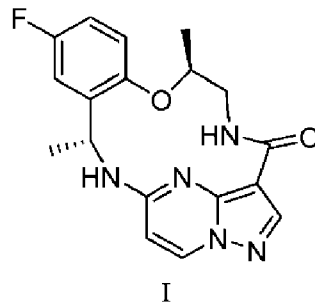
12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en donde R^3 y R^4 son metilo.

13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en donde PG es Boc.

14. Un compuesto de la reivindicación 6 de la fórmula



15. Un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I

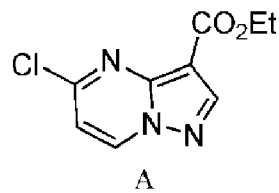


5

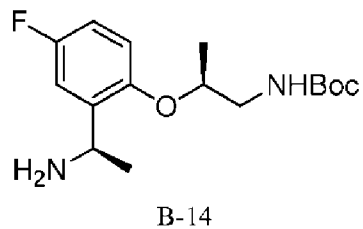
que comprende

(a) poner en contacto un compuesto de la fórmula A

10

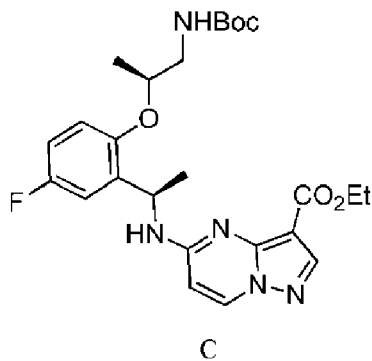


con un compuesto de la fórmula B-14



15

en presencia de una base para proporcionar un compuesto de la fórmula C

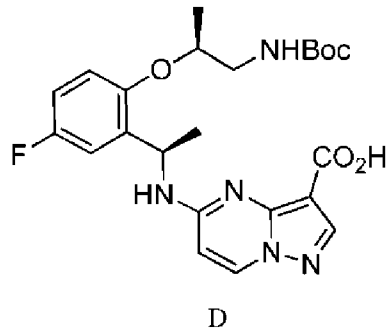


20

; o

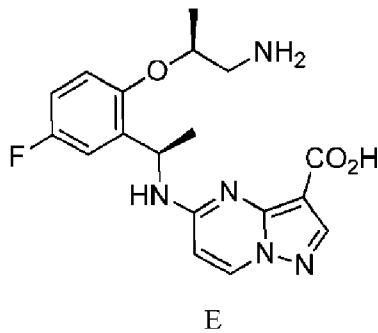
(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula C con una base inorgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula D

25



; o

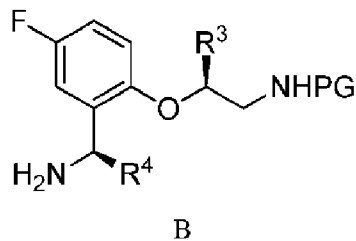
- 5 (c) poner en contacto un compuesto de la fórmula D con un ácido para proporcionar un compuesto de la fórmula E



10 ; o

- (d) poner en contacto un compuesto de la fórmula E con una base en presencia de un reactivo de fosinato para proporcionar el compuesto de la fórmula I.

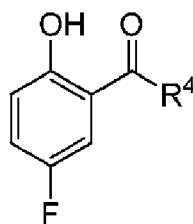
- 15 16. Un proceso para preparar un compuesto de la fórmula B



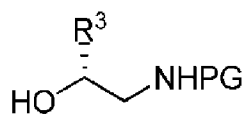
en donde

- 20 PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y
 R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente;
 que comprende

- 25 (a) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-1



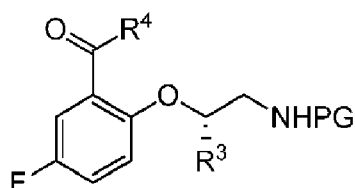
en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; con un compuesto de la fórmula B-2R



B-2R

5

en donde R³ es alquilo C₁-C₄ y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-3



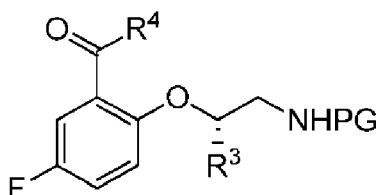
B-3

10

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son cada uno de manera independiente C₁-C₄ alquilo;

15

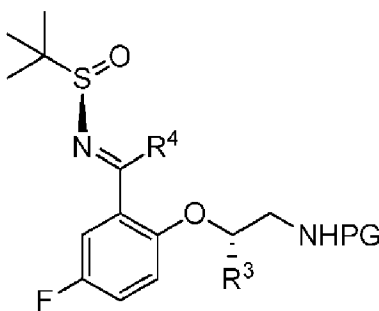
(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-3



B-3

20

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente; con (R)-2-metil-2-propanosulfonamida para proporcionar un compuesto de la fórmula B-5

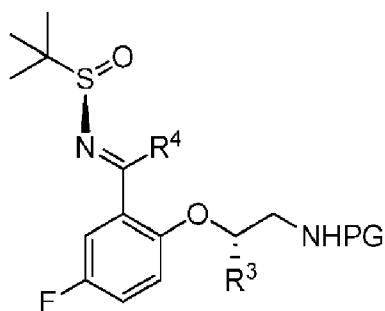


B-5

25

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente;

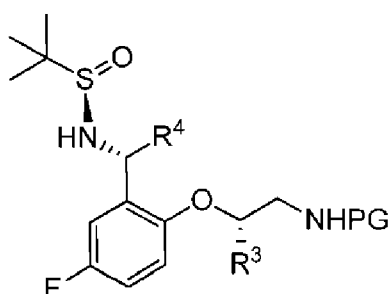
(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-5



B-5

5

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-6

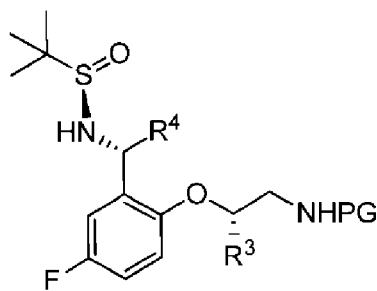


B-6

10

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente;

(d) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-6



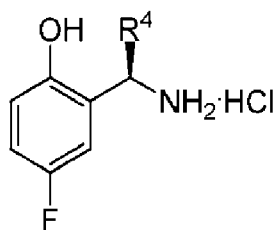
B-6

15

en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; y R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente; con un reactivo de yodo para proporcionar un compuesto de la fórmula B; o

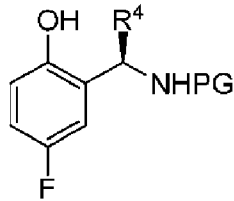
20

(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-7



B-7

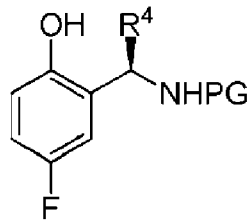
en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; bajo condiciones adecuadas para preparar un compuesto de la fórmula B-8



B-8

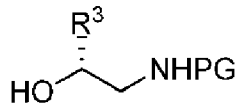
5 en donde R⁴ es C₁-C₄ alquilo; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts;

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-8



B-8

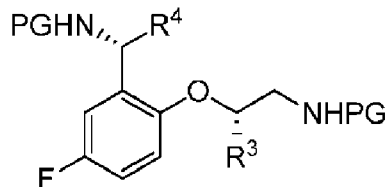
10 en donde R⁴ es alquilo C₁-C₄; y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un compuesto de la fórmula B-2R



B-2R

15 en donde R³ es alquilo C₁-C₄ y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; en presencia de un reactivo de azodicarboxilato y un reactivo de fosfina para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9

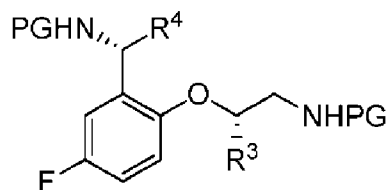
20



B-9

25 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente;

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9

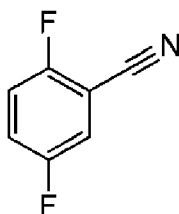


B-9

30

en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es independiente; y R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente; con una base inorgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B; o

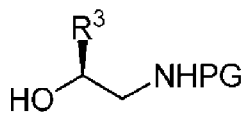
5 (a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-10



B-10

10

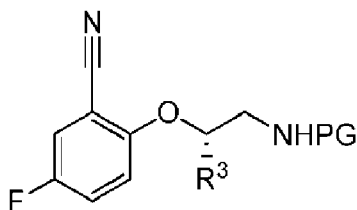
con un compuesto de la fórmula B-2S



B-2S

15

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; en presencia de una base para proporcionar un compuesto de la fórmula B-11

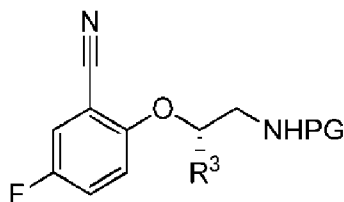


B-11

20

en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts;

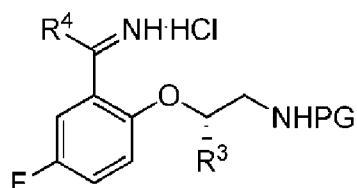
(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-11



B-11

25

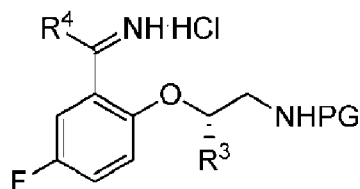
en donde R^3 es alquilo C_1-C_4 y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un nucleófilo para proporcionar un compuesto de la fórmula B-12



B-12

en donde R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts;

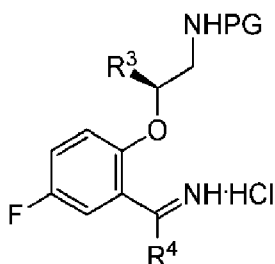
5 (c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-12



B-12

10 en donde R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente y PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B; o

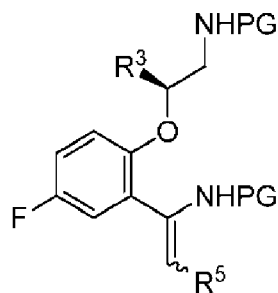
(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula B-12



B-12

15 en donde PG se selecciona del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts; R^3 y R^4 son alquilo C_1-C_4 cada uno de manera independiente; bajo condiciones adecuadas para preparar un compuesto de la fórmula B-13

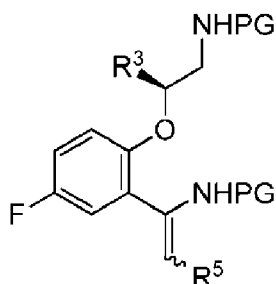
20



B-13

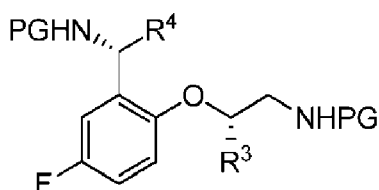
25 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R^3 es alquilo C_1-C_4 ; y R^5 es alquilo C_1-C_3 ;

(b) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-13



B-13

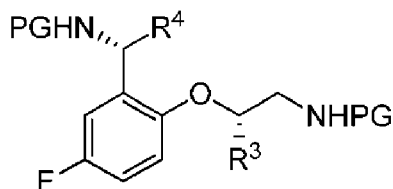
5 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; R³ es alquilo C₁-C₄; y R⁵ es alquilo C₁-C₃; con un agente reductor para proporcionar un compuesto de la fórmula B-9



B-9

10 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente;

(c) poner en contacto un compuesto de la fórmula B-9



B-9

15 en donde cada PG se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en FMOC, Boc, Cbz, Ac, trifluoroacetilo, ftalimida, Bn, tritilo, bencilideno y Ts, dado que cada PG es diferente; y R³ y R⁴ son alquilo C₁-C₄ cada uno de manera independiente; con una base inorgánica para proporcionar un compuesto de la fórmula B.

20 B.

17. Una forma de polimorfo cristalino de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de un cáncer en un ser humano, opcionalmente en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, carcinoma hepatocelular, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, cánceres gástrico y esófago-gástrico, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfomas linfocíticos, tales como linfoma anaplásico de células grandes, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), glioblastoma, linfoma del SNC primario, tumores del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, tumores miofibroblásticos inflamatorios y combinaciones de los mismos, opcionalmente además en donde el cáncer es cáncer de pulmón no microcítico.

25

30

35

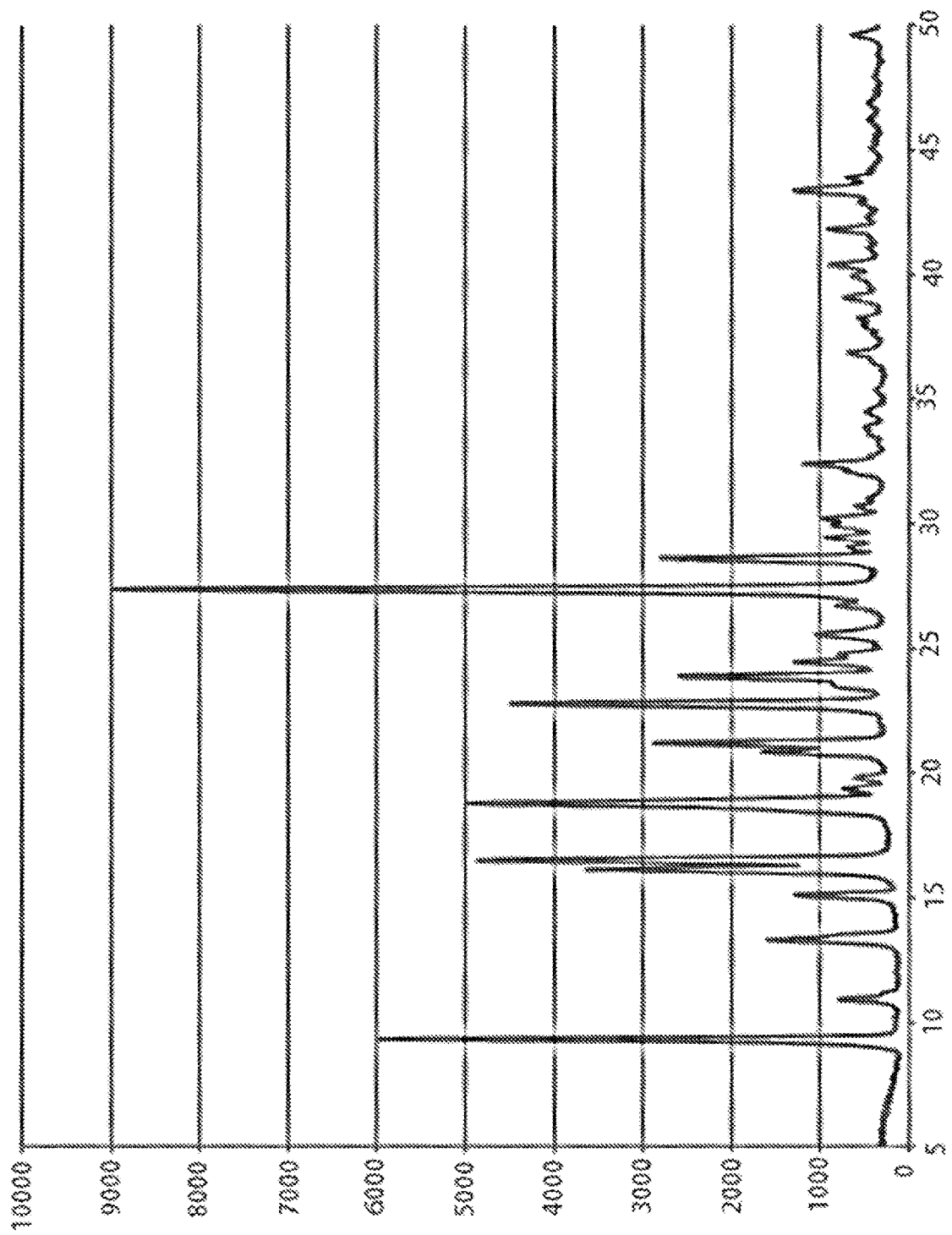


Fig. 1

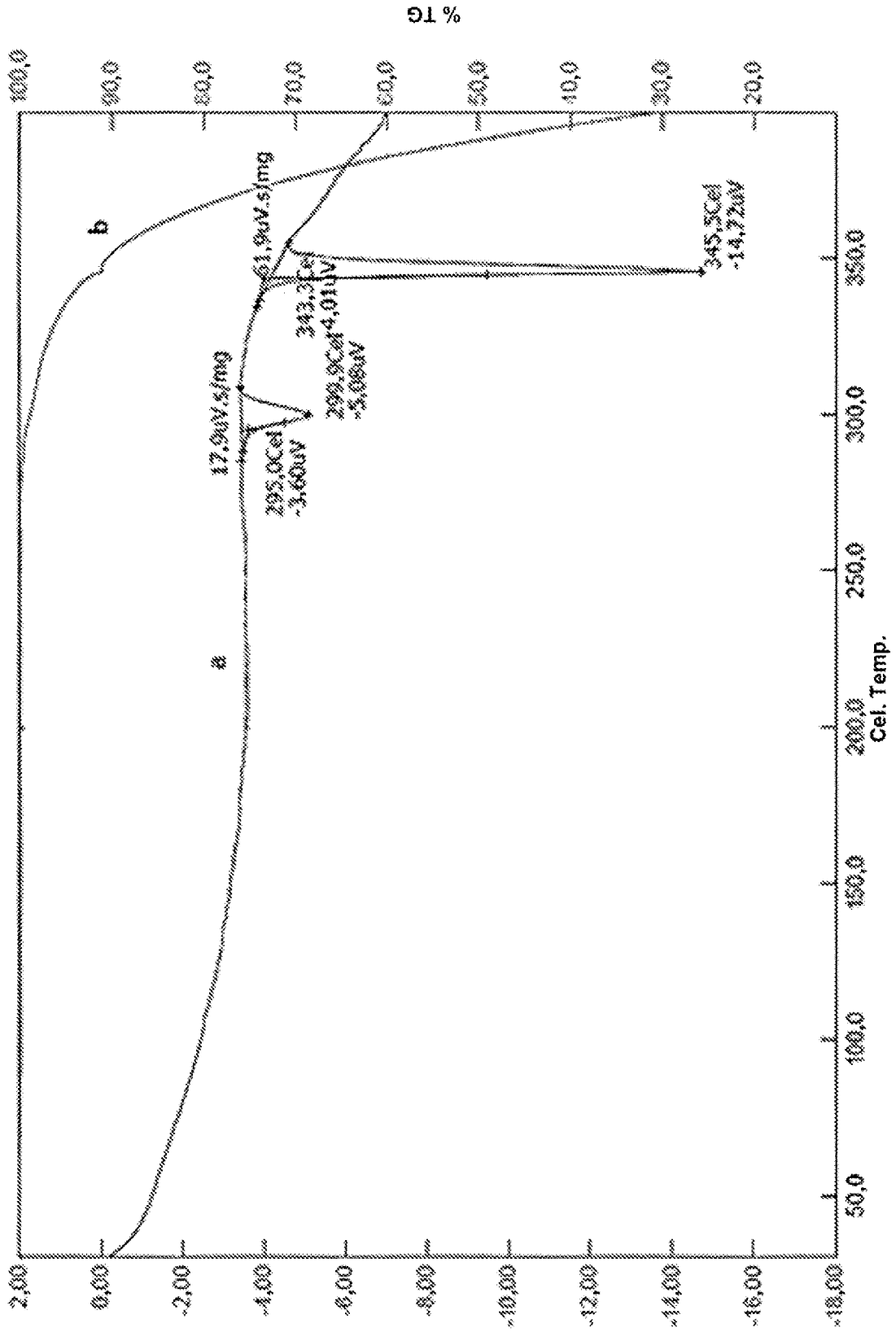


Fig. 2