

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 959 419**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/497 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2014 PCT/US2014/060039**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015 WO15054574**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2014 E 14852309 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.07.2023 EP 3054937**

(54) Título: **Formulaciones secas por aspersión**

(30) Prioridad:

11.10.2013 US 201361889887 P

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

26.02.2024

(73) Titular/es:

PULMOKINE, INC. (50.0%)
7 University Place, Lab Location - RM B127
Rensselaer, NY 12144, US y
GILEAD SCIENCES, INC. (50.0%)

(72) Inventor/es:

ZISMAN, LAWRENCE, S.

(74) Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 959 419 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

Formulaciones secas por aspersión

5 Campo de la invención

La presente descripción se refiere generalmente al tratamiento y prevención de la enfermedad asociada con la actividad de la proteína cinasa. En particular, la presente tecnología se refiere a formulaciones terapéuticas de inhibidores de proteína cinasa y métodos para el tratamiento o prevención de afecciones pulmonares y vasculares, cáncer y otros trastornos.

Antecedentes de la invención

15 La siguiente discusión de los antecedentes se proporciona simplemente para ayudar al lector a comprender la invención y no necesariamente describe ni constituye la técnica anterior.

20 Los receptores tirosina cinasas (RTK) son polipéptidos transmembrana que regulan la regeneración, remodelación, desarrollo y diferenciación de células y tejidos. Ver, por ejemplo, los siguientes documentos, Mustonen y otros, *J. Cell Biology* 129, 895-898 (1995); van der Geer y otros *Ann Rev. Cell Biol.* 10, 251-337 (1994). Además de activar los RTK, los factores de crecimiento de ligandos polipeptídicos y las citocinas son capaces de inducir cambios conformacionales en los dominios externos de RTK, lo que da como resultado la dimerización del receptor. Documento Lymboussaki, Dissertation, Univ. de Helsinki, Mol./Cancer Bio Lab y Dept. de Pathology, Haartman Institute (1999); Ullrich y otros, *Cell* 61, 203-212 (1990). Además, la unión del ligando-receptor RTK afín imparte transfosforilación del receptor en residuos de tirosina específicos y la activación subsecuente de los dominios catalíticos de la cinasa, de esta manera permite la fosforilación del sustrato y la activación de cascadas de señalización asociadas.

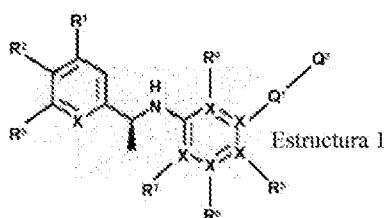
25 Sin embargo, la actividad aberrante de RTK está asociada con una variedad de enfermedades y el suministro sistémico de ciertos inhibidores de RTK ha demostrado eficacia para enfermedades específicas. Se han empleado ensayos *in vivo* con este fin, que incluyen el sistema modelo murino monocrotalina (MCT), para determinar si supuestos inhibidores de RTK funcionarían como agentes terapéuticos. Sin embargo, en lo que respecta a la eficacia preclínica de los candidatos a fármacos, el modelo MCT ha sido criticado en la medida en que tal sistema no logra fundamentar ciertos fenotipos de enfermedades humanas, por ejemplo, el desarrollo de lesiones neointimales y/o plexiformes que son sintomáticamente comórbidas con tales enfermedades. Por lo tanto, este modelo es un sistema imperfecto, que puede confundir las indicaciones etiológicas y patológicas de las enfermedades humanas. Por lo tanto, se necesitan sistemas modelo nuevos o complementarios para un desarrollo de fármacos preciso y eficiente.

30 Junto con el desarrollo y la administración de inhibidores de RTK de primera generación, por ejemplo, imatinib, los RTK han desarrollado resistencia a los inhibidores al adquirir ciertas mutaciones. Ver, por ejemplo, documento Shah y otros, *Science*, 305, 395-402 (2004). Por ejemplo, en pacientes enfermos refractarios a ciertos inhibidores de cinasas, por ejemplo, imatinib, se ha demostrado que el "residuo guardián" del bolsillo hidrófobo frecuentemente posee mutaciones. Ver documento Pao y otros, *PLoS Med.* 2(3): e73 (2005). Tales mutaciones se han identificado con respecto a ABL, es decir, en el residuo T315 y en posiciones análogas en KIT, PDGFR α , EGFR y otras cinasas.

35 Id. Por lo tanto, se requieren nuevos inhibidores de RTK con eficacia superior, desarrollados en sistemas modelo que fenotípicamente se parecen a la patología de las enfermedades humanas, para prevenir y tratar enfermedades que poseen una actividad RTK aberrante. El número de publicación de la solicitud de patente internacional WO 2005/015594A2 (Epigenesis Pharmaceuticals LLC) describe una combinación de dehidroepiandrosterona o sulfato de dehidroepiandrosterona con un inhibidor de la tirosina cinasa, un antagonista del receptor opioide delta, un antagonista del receptor de neuroquinina o un inhibidor de VCAM para el tratamiento del asma o de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. El documento Duret C. y otros, *Pharm. Res.*, 29(10), 2845-2859 (2012) analiza una nueva composición de polvo seco de itraconazol respirable y de rápida disolución para el tratamiento de la aspergilosis pulmonar invasiva.

40 55 Resumen de la invención

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método de inhibición no selectiva del receptor cinasa para tratar trastornos pulmonares en un sujeto, que incluye: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, donde la Estructura 1 tiene la fórmula:



10 Y donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S o -CN;

15 R¹, R² y R³ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, grupos -C(=O)R⁸, grupos -N-C(=O)R⁸, grupos -C-N-C(=O)R⁸, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos sustituidos con uno o más de R⁹, R¹⁰ y R¹¹, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicliclalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

20 R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷, pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, grupos -C=N, -C=N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterocicliclalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)amino sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)H, -C(=O)-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquilo)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(aril)(heterociclico), grupos heterocicliclamoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, diheterocicliclamoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(alquilo)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(aril)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos; grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(aril)(heterociclico), grupos heterocicliclamoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -NH(alquilo), grupos -NH(arilo), grupos -N(alquilo)₂, grupos -N(arilo)₂, grupos -N(alquilo)(arilo), grupos -NH(heterociclico), grupos -N(heterociclico)(alquilo), grupos -N(heterociclico)(arilo), grupos -N(heterociclico)₂, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxi sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -NHOH, grupos -N(alquilo)OH, grupos -N(aril)OH, grupos -N(alquilo)O-alquilo, grupos -N(aril)O-alquilo, grupos -N(alquilo)O-arilo y grupos -N(aril)O-arilo;

55 R⁸ se selecciona del grupo que consiste en R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, H, ausente, -C=C, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R⁹) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R¹⁰) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R⁹)(R¹⁰) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R⁹)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico(R⁹)(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R⁹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R¹⁰) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R⁹)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R⁹)(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R⁹)(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-heterociclico(R⁹)(R¹⁰)(R¹¹) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R⁹) sustituidos y no sustituidos, grupos

arilo(R^{10}) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R^9)(R^{10}) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R^9)(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R^{10})(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos arilo(R^9)(R^{10})(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^9) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^{10}) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^9)(R^{10}) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^9)(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-arilo(R^{10})(R^{11}) sustituidos y no sustituidos, y grupos -C(=O)-arilo(R^9)(R^{10})(R^{11}) sustituidos y no sustituidos;

10 R⁹, R¹⁰y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en ausente, H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, grupos -C-N-C, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos -C=N, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(arilo)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)amino sustituidos y no sustituidos, -C(=O)H, -C(=O)-grupos alquilo, -C(=O)-grupos arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, -C(=O)O-ariilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-ariilo,-C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquil)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-ariilo, -grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquil)(heterociclico), grupos -C(=O)-N (aryl)(heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

30 R¹² se selecciona del grupo que consiste en ausente, H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, grupos -C-N-C, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos -C=N, grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, grupos -S(=O)₂-, grupos -S(=O)₂-C-, grupos -S(=O)₂-C=C-CH₃, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicilialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

45 Q¹ se selecciona del grupo que consiste en un enlace directo, H, C, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, grupos -C-N-C, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos -C=N, grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, -CF₃, -C=N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos metoxi, grupos dimetoxi, metoxifenol, grupos metoxifenol, dimetoxifenol, grupos dimetoxifenol, dimetoxibenceno, grupos dimetoxibenceno, grupos metoximetilbencilo, grupos aralquilo sustituidos y no sustituidos, -NH₂, grupos heterociclicalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos/no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

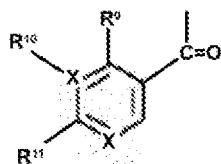
Q^2 se selecciona de los grupos que consisten en ausente, H, O1, O1(O³), OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi; y

Q³ se selecciona del grupo que consiste en ausente, un enlace directo, H, C, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C≡N, -grupos -C-N-C, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos -C=N, grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, -CF₃, -C=N, grupos -C-N-C, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, -OH, grupos alcoxi, grupos alcoxi, grupos arilloxi, grupos metoxi, grupos dimetoxi.

metoxifenol, grupos metoxifenol, dimetoxifenol, grupos dimetoxifenol, dimetoxibenceno, grupos dimetoxibenceno, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos. Los contenidos del párrafo anterior se denominarán en lo sucesivo "QXR".

- 5 En modalidades ilustrativas, la estructura de R⁸ tiene la siguiente fórmula:

10



15

donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S, y -CN;

20

R⁹, R¹⁰ y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; y

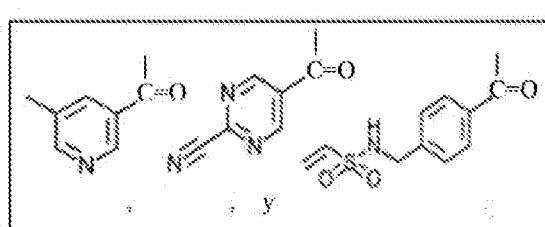
25

R¹² se selecciona del grupo que consiste en grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, grupos -S(=O)₂-, grupos -S(=O)₂-C-, grupos -S(=O)z-C=C-, -S(=O)₂-C=C-CH₃, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alkilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos. Los contenidos del párrafo anterior (es decir, [0010]) se denominarán en lo sucesivo "QXR2".

40

- En modalidades ilustrativas, la estructura de R⁸ se selecciona del Grupo A como se muestra.

45



Estructuras Grupo A.

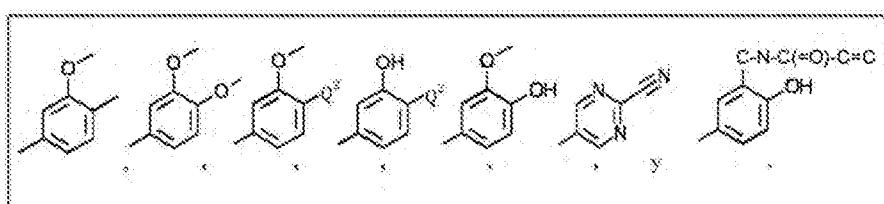
50

En modalidades ilustrativas, la estructura de Q¹ o Q² se selecciona del Grupo B como se muestra más abajo, -CH₃, -OH, -O-CH₃, -C-N-C(=O)-C=C, y -C-N-C(=O)-C-F.

55

Estructuras Grupo B.

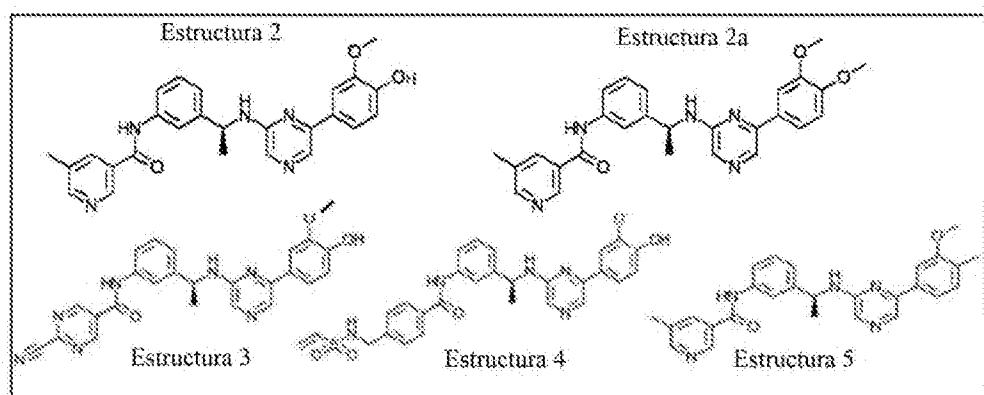
60



65

En algunas modalidades, el compuesto de Estructura 1 es un compuesto de Estructura 2, 2a, 3, 4 o 5, como se muestra más abajo en el Grupo C.

Estructuras Grupo C



En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1, 2, 2a, 3, 4 o 5 se administra por vía oral, intravenosa, subcutánea, transdérmica, intraperitoneal o por inhalación. En modalidades ilustrativas, el receptor cinasa es un receptor tirosina cinasa (RTK), y en donde el RTK es un receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR). En modalidades ilustrativas, el PDGFR es el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- α) o el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- β) o ambos. En modalidades ilustrativas, el PDGFR es un homodímero o heterodímero seleccionado de PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$, o cualquiera de sus combinaciones. En modalidades ilustrativas, la inhibición del PDGFR es efectiva en el tratamiento del trastorno pulmonar, donde el trastorno pulmonar es hipertensión arterial pulmonar (PAH), PAH asociada con lesiones plexiformes y/o neointimales, PAH asociada con fibrosis pulmonar y/o vaso de generación progresiva, proliferación anormal de fibroblastos y/o miofibroblastos, o trastornos vasculares pulmonares asociados con proliferación anormal de células endoteliales, o cualquiera de sus combinaciones.

En modalidades ilustrativas, la inhibición es una inhibición combinada tanto del PDGFR- α como del PDGFR- β . En modalidades ilustrativas, la inhibición previene la activación tanto del PDGFR- α como del PDGFR- β mediante la modulación de interacciones de sustratos afines. En modalidades ilustrativas, el sustrato afín se selecciona de PDGFAA, PDGFBB y PDGFAB, o cualquiera de sus combinaciones. En modalidades ilustrativas, el trastorno pulmonar se selecciona de hipertensión arterial pulmonar (PAH), PAH asociada con lesiones plexiformes y/o neointimales, PAH asociada con fibrosis pulmonar y/o vaso de generación progresiva, proliferación anormal de fibroblastos y/o miofibroblastos y trastornos vasculares pulmonares asociados con una proliferación anormal de células endoteliales.

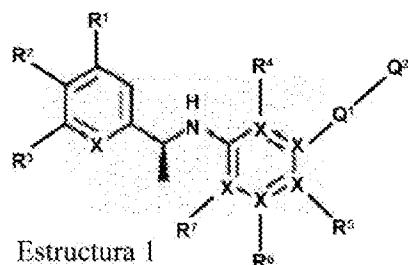
En modalidades ilustrativas, la PAH se selecciona de PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, BMPR2, ALK1, endoglinina asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, endoglinina no asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, PAH inducida por fármacos y PAH inducida por toxinas, PAH asociada con esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, VIH, hepatitis y/o hipertensión portal.

En modalidades ilustrativas, la PAH es secundaria a hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, enfermedad venooclusiva pulmonar (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), hipertensión pulmonar de enfermedad del corazón izquierdo, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipoventilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroides, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante y/o insuficiencia renal crónica en diálisis.

En modalidades ilustrativas, el trastorno pulmonar está asociado con anomalías: presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP); presión pulmonar; salida cardíaca; hipertrofia del ventrículo derecho (RV); y/o hipertrofia arterial pulmonar (AP). En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1 posee una IC₅₀ de menos de 300 nM para el receptor cinasa. En modalidades ilustrativas, el receptor cinasa es el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- α) o el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- β) o ambos, y donde el trastorno pulmonar es hipertensión arterial pulmonar. En modalidades ilustrativas, la inhibición se

produce a través de una interacción no covalente. En modalidades ilustrativas, la inhibición se produce a través de una interacción covalente.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar la hipertensión arterial pulmonar (PAH) en un sujeto, que incluye: modular el estado de fosforilación de una o más dianas aguas abajo del receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- α) o del receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- β) o ambos, donde la diana aguas abajo es cualquier sustrato fosforilado como resultado de la activación de PDGFR- α y/o PDGFR- β , al administrar al sujeto un compuesto de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, donde la diana aguas abajo se selecciona del grupo que consiste en AKT, PDGFR, STAT3, ERK1 y ERK2, o cualquier otra diana aguas abajo del PDGFR- α y/o del PDGFR- β , y donde el compuesto de Estructura 1 tiene la siguiente fórmula:



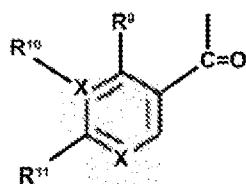
donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S o -CN;

R^1 , R^2 y R^3 pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, grupos -C(=O)R⁸, grupos -N-C(=O)R⁸, grupos -C-N-C(=O)R⁸, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos sustituidos con uno o más de R⁹, R¹⁰y R¹¹, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarylaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicililalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

R^4 , R^5 , R^6 y R^7 , pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, grupos -C=N, -C≡N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)amino sustituidos y no sustituidos, -C(=O)H, grupos -C(=O)-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquil)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquil)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo) (heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicloxialquilo sustituidos y no sustituidos, diheterocicliclaminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(alquil)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(aryl)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicloxialquilo sustituidos y no sustituidos; grupos -(alquil)(aryl)aminoalquilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquil)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo) (heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilloxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicloxialquilo sustituidos y no sustituidos;

sustituidos, y grupos heterociclicloxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -NH(alquilo), grupos -NH(arilo), grupos -N(alquilo)₂, grupos -N(arilo)₂, grupos -N(alquil)(arilo), grupos -NH(heterociclico), grupos -N(heterociclico)(alquilo), grupos -N(heterociclico)(arilo), grupos -N(heterociclico)₂, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxi sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -NHOH, grupos -N(alquil)OH, grupos -N(aril)OH, grupos -N(alquil)O-alquilo, grupos -N(aril)O-alquilo, grupos -N(alquil)O-arilo y grupos -N(aril)O-arilo;

donde la estructura de R^8 tiene la siguiente fórmula:

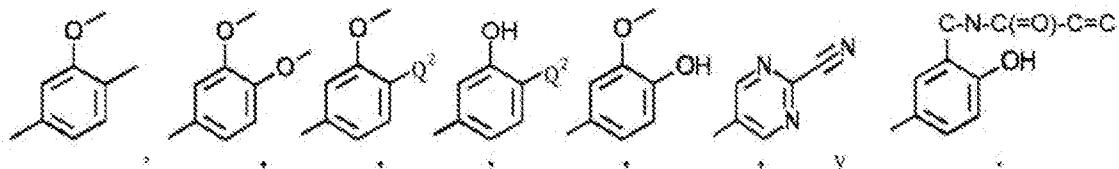


y donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S, o -CN;

20 R⁹, R¹⁰y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterocicilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

R^{12} se selecciona del grupo que consiste en grupos $-C(=O)-$, grupos $-C(=O)-C-$, $-C(=O)-C=C$, grupos $-S(=O)_2-$, grupos $-S(=O)_2-C-$, grupos $-S(=O)z-C=C-$, $-S(=O)_2-C=C-CH_3$, $-OH$, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; y

45 donde la estructura de Q¹ o Q² se selecciona del grupo que consiste en -CH₃, -OH, -O-CH₃, -C-N-C(=O)-C=C, -C-N-C(=O)-C-F,

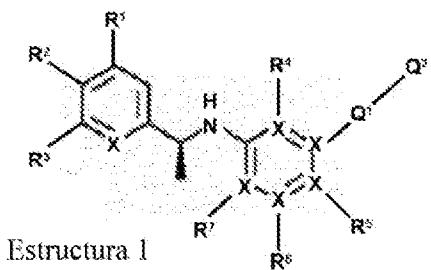


55 Todos los contenidos del párrafo anterior se denominarán en lo sucesivo "QXR3"

En modalidades ilustrativas, la estructura de R⁸ se selecciona de las estructuras del Grupo A indicadas anteriormente en el Resumen. En modalidades ilustrativas, la modulación es una disminución de STAT3 fosforilada a STAT3 total, ERK1 difosforilada a ERK1 total, ERK2 difosforilada a ERK2 total, ERK1 monofosforilada a ERK1 total, PDGFR fosforilada a PDGFR total, o AKT fosforilada a AKT total, o cualquiera de sus combinaciones, en el sujeto en comparación con el PSR en el sujeto antes de la administración. En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1 interactúa con AKT en los residuos Thr308 y/o Ser473, o donde el compuesto de Estructura 1 interactúa con uno o más del PDGFR- α , PDGFR- β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, y/o los aminoácidos de PDGFR- $\alpha\beta$ seleccionados de LYS627, VAL607, GLU644, MET648, HIS816, LEU809, ASP836, CYS814, ILE834, CYS835, PHE937, LYS634, VAL614, GLU651, MET655, HIS824, LEU817, ASP844, CYS822, ILE842, VAL658, ILE647,

HIS816, ARG836, LYS634, GLU651, ALA632, HIS824, MET655, ARG825, CYS843, THR874, ARG817, VAL815, LEU651, LEU809, ILE657, THR681, ILE654, ARG825, ASP826, LEU658, LEU825, PHE837, LEU658, HIS824, CYS814, ILE654, ASP844, ILE842, y/o CYS843, o cualquiera de sus combinaciones.

- 5 En algunas modalidades, el compuesto de Estructura 1 es un compuesto seleccionado de las estructuras del Grupo C indicadas anteriormente en el Resumen. En modalidades ilustrativas, la inhibición se produce a través de una interacción no covalente. En modalidades ilustrativas, la inhibición se produce a través de una interacción covalente. En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, para tratar uno o más enfermedades asociadas con hiperproliferación, neoplasia, hipoplasia, hiperplasia, displasia, metaplasia, prosoplasia, desmoplasia, angiogénesis, inflamación, estado inmunológico, metabolismo, función pulmonar y función cardiovascular mediante la inhibición no selectiva de un receptor tirosina cinasa (RTK) seleccionado de AKT, c-Kit, y/o PDGFR, donde la Estructura 1 es la siguiente:



donde X , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 (y R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , y R^{12} , tal como están contenidos en el mismo), Q^1 y Q^2 (y Q^3 tal como están contenidos en el mismo) se seleccionan de "XRQ3", como se indicó anteriormente.

- 30 En modalidades ilustrativas, la estructura de R⁸ se selecciona de las estructuras del Grupo A indicadas anteriormente en el Resumen. En algunas modalidades, el compuesto es una estructura seleccionada de las estructuras del Grupo C indicadas anteriormente en el Resumen.

35 En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1 se administra por vía oral, intravenosa, subcutánea, transdérmica, intraperitoneal o por inhalación. En modalidades ilustrativas, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en cáncer, cáncer metastásico, VIH, hepatitis, PAH, PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, BMPR2, ALK1, endoglinas asociadas con telangiectasia hemorrágica hereditaria, endoglinas no asociadas con telangiectasia hemorrágica hereditaria, PAH inducida por fármacos y PAH inducida por toxinas, PAH asociadas con esclerosis sistémica y enfermedad mixta del tejido conectivo, hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente en recién nacidos, enfermedad venooclusiva pulmonar (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), enfermedad del corazón izquierdo, hipertensión pulmonar, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, COPD, trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipoventilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroides, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante e insuficiencia renal crónica en diálisis.

40

45

50

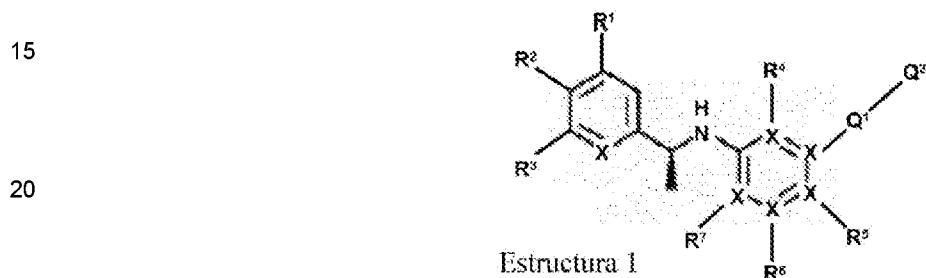
55 En modalidades ilustrativas, la sal es una sal de cloruro, hidrocloruro, sulfato, fosfato, mesilato, bismesilato, tosilato, lactato, tartrato, malato, bisacetato, citrato o bishidrocloruro. En modalidades ilustrativas, la inhibición se produce a través de una interacción no covalente. En algunas modalidades, la inhibición se produce mediante una interacción covalente. En algunas modalidades, el compuesto de Estructura 1 posee un IC₅₀ de menos de 300 nM para el receptor cinasa. En modalidades ilustrativas, los métodos de tratamiento dan como resultado una o más de capacidad de ejercicio mejorada, clase funcional mejorada, menor dificultad para respirar, menor hospitalización, menor necesidad de trasplante de pulmón, menor necesidad de septostomía auricular y mayor longevidad o supervivencia general. En algunas modalidades, la capacidad de ejercicio mejorada es una mayor distancia de caminata de 6 minutos. En modalidades adecuadas, la clase funcional mejorada es una mejora de la clase IV a la clase III, II o I, o una mejora de la clase III a la clase II o I, o una mejora de la clase II a la clase I.

60

65 En algunas modalidades, se describe una formulación de polvo seco por aspersión de PK10571 (base libre o forma de sal) con excipiente leucina adecuado para inhalación de manera que se suministre una dosis efectiva para el tratamiento de una enfermedad. Se describe una formulación de polvo seco por aspersión de PK10571 (base libre o forma de sal) con excipientes trehalosa y leucina adecuados para inhalación, en determinadas modalidades, de

manera que se suministre una dosis efectiva para el tratamiento de una enfermedad. Un inhibidor no selectivo del receptor cinasa de PDGF (aproximadamente igualmente potente contra el receptor alfa de PDGFR y el receptor beta de PDGFR) se describe en algunas modalidades como un polvo seco por aspersión formulado con leucina o leucina/trehalosa adecuado para inhalación de manera que se suministre una dosis efectiva para el tratamiento de una enfermedad, cuando la enfermedad es hipertensión arterial pulmonar del grupo 1 de la OMS; la enfermedad es PAH del grupo 3 de la OMS (PAH asociada con enfermedad pulmonar intestinal o fibrosis pulmonar).

En un aspecto, la presente descripción es una composición que comprende un excipiente y un compuesto inhibidor no selectivo del receptor tirosina cinasa (RTK) de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, en donde la composición es un polvo seco, y en donde la Estructura 1 tiene la siguiente fórmula:



25 en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S o -CN;
 R¹, R²y R³ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, grupos -C(=O)R⁸, grupos -N-C(=O)R⁸, grupos -C-N-C(=O)R⁸, N-C(=O)-N-R⁸, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos, grupos urea sustituidos y no sustituidos, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos sustituidos con uno o más de R⁹, R¹⁰y R¹¹, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicliclalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;
 R⁴, R⁵, R⁶y R⁷, pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C=N, grupos -C=N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterocicliclalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)amino sustituidos y no sustituidos, -C(=O)H, grupos -C(=O)-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquilo)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclio)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo)(heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliroxialquilo sustituidos y no sustituidos, diheterocicliclaminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclio)(alquilo)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclio)(aril)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)-N(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclio)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo)(heterociclico), grupos heterocicliclalquilo sustituidos y no sustituidos, diheterocicliclalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclio)(alquilo)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclio)(aril)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -NH(alquilo), grupos -NH(arilo), grupos -N(alquilo)₂, grupos -N(arilo)₂, grupos -N(alquilo)(arilo), grupos -NH(heterociclico), grupos -N(heterociclio)(alquilo), grupos -N(heterociclico)(arilo), grupos -N(heterociclico)₂, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos;

30

35

40

45

50

55

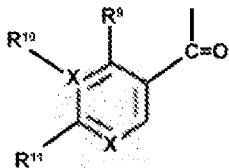
60

65

sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxi sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -NHOH, grupos -N(alquil)OH, grupos -N(aril)OH, grupos -N(alquil)O-alquilo, grupos -N(aril)O-alquilo, grupos -N(alquil)O-arilo y grupos -N(aril)O-arilo; en donde la estructura de R⁸ tiene la siguiente fórmula:

5

10



y en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S, o -CN;

R⁹, R¹⁰ y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

R¹² se selecciona del grupo que consiste en grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, grupos -S(=O)₂-, grupos -S(=O)₂-C-, grupos -S(=O)₂-C=C-, -S(=O)₂-C=C-CH₃, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; y en donde la estructura de Q¹ o Q² se selecciona del grupo que consiste en estructuras del Grupo B, -CH₃, -OH, -O-CH₃, -C-N-C(=O)-C=C, y -C-N-C(=O)-C-F, y Cl (cloruro).

40 En algunas modalidades, el polvo seco es un polvo secado por aspersión. En modalidades ilustrativas, el compuesto enumerado en el Cuadro A/Figura. 1. En modalidades ilustrativas, el receptor tirosina cinasa se selecciona del grupo que consiste en AKT, c-Kit y el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR). En modalidades ilustrativas, el receptor tirosina cinasa es PDGFR. En modalidades ilustrativas, el PDGFR es el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- α) o el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- β) o ambos. En modalidades ilustrativas, el PDGFR es un homodímero o heterodímero seleccionado del grupo que consiste en PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$, o cualquiera de sus combinaciones. En modalidades ilustrativas, el excipiente comprende un aminoácido hidrófobo. En modalidades ilustrativas, el aminoácido hidrófobo se selecciona del grupo que consiste en: triptófano, tirosina, leucina, trileucina, isoleucina y fenilalanina.

50 En modalidades ilustrativas, el aminoácido hidrófobo es leucina. En modalidades ilustrativas, el aminoácido hidrófobo es L-leucina. En modalidades ilustrativas, el aminoácido hidrófobo está presente en una cantidad que oscila de 10-95 % en peso de la composición. En modalidades ilustrativas, el excipiente comprende un agente de carga tipo carbohidrato. En modalidades ilustrativas, el agente de carga tipo carbohidrato se selecciona del grupo que consiste en: lactosa, manitol, trehalosa, rafinosa o una maltodextrina. En modalidades ilustrativas, el agente de carga tipo carbohidrato es trehalosa. En modalidades ilustrativas, el excipiente comprende un aminoácido hidrófobo y un agente de carga tipo carbohidrato. En modalidades ilustrativas, el excipiente comprende leucina y trehalosa. En modalidades ilustrativas, el polvo seco comprende partículas que tienen un diámetro aerodinámico medio de masa menor o igual a aproximadamente 5 μ m. En modalidades ilustrativas, al menos el 50 % de las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa inferior a aproximadamente 5 μ m.

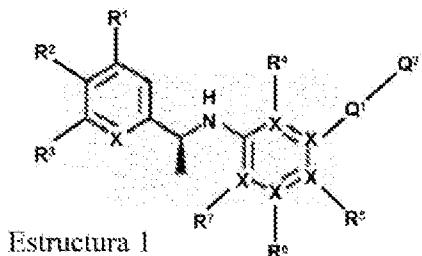
60 En modalidades ilustrativas, al menos el 50 % de las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa inferior a aproximadamente 3 μ m. En modalidades ilustrativas, al menos el 50 % de las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa inferior a aproximadamente 3 μ m. En modalidades ilustrativas, el polvo seco tiene un contenido de humedad inferior a aproximadamente el 5 % en peso de agua. En modalidades ilustrativas, el polvo seco es sustancialmente amorfo. En modalidades ilustrativas, el polvo seco tiene una temperatura de transición

vítreo superior a 50 grados Celsius. En modalidades ilustrativas, el polvo seco tiene una temperatura de transición vítreo superior a 90 grados Celsius. En modalidades ilustrativas, el pH del polvo reconstituido es superior a 3. En modalidades ilustrativas, el valor de $T_{MÁXIMO}$ medio en plasma arterial o venoso es de 1-60 minutos. En modalidades ilustrativas, el intervalo de valores de AUC es 100.000-400.000 ng/mL*min. En modalidades ilustrativas, la concentración plasmática máxima media del compuesto ($C_{MÁXIMA}$) está dentro del intervalo de aproximadamente 100-3000 ng/mL.

En modalidades ilustrativas, la vida media terminal del compuesto cuando se suministra por inhalación oscila de 100-300 minutos. En modalidades ilustrativas, la dosis emitida es 40 % o más.

En modalidades ilustrativas, la biodisponibilidad por inhalación es aproximadamente 10 % o más. En modalidades ilustrativas, la sal es una sal de cloruro, hidrocloruro, sulfato, fosfato, mesilato, bismesilato, tosilato, lactato, tartrato, malato, bisacetato, citrato o bishidrocloruro. En modalidades ilustrativas, la composición se formula como una base libre. En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1 posee una IC₅₀ de menos de 300 nM para el receptor cinasa. En modalidades ilustrativas, el excipiente es un fosfolípido. En modalidades ilustrativas, el excipiente es 1,2-diestearoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DSPC). En modalidades ilustrativas, el excipiente es DSPC en combinación con una cantidad de cloruro de calcio para alcanzar una temperatura de transición vítreo aceptable. En modalidades ilustrativas, al menos el 50 % de las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa inferior a aproximadamente 3 µm. En modalidades ilustrativas, el polvo seco se suministra mediante un inhalador de polvo seco.

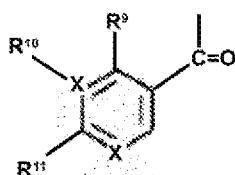
En un aspecto, la presente descripción es un método para tratar una enfermedad que comprende: (a) seleccionar un sujeto que necesita tratamiento; y (b) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación de polvo seco de partículas secadas por aspersión preparada a partir de una materia prima que comprende un excipiente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en lactosa, manitol, trehalosa, rafinosa, maltodextrina, triptófano, tirosina, leucina, trileucina, isoleucina, fenilalanina y DSPC, o cualquiera de sus combinaciones, en donde las partículas comprenden un compuesto inhibidor no selectivo del receptor tirosina cinasa (RTK) de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquiera de sus mezclas, en donde la Estructura 1 tiene la siguiente fórmula:



en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S o -CN;

45 R¹, R²y R³ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, grupos -C(=O)R⁸, grupos -N-C(=O)R⁸, -C-N-C(=O)R⁸, grupos N-C(=O)-N-R⁸, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos sustituidos con uno o más de R⁹, R¹⁰y R¹¹, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos urea sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterocicilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; R⁴, R⁵, R⁶y R⁷, pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C=N, grupos -C=N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterocicilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos

(alquil)(aril)amino sustituidos y no sustituidos, -C(=O)H, grupos -C(=O)-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-arilo,-C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquil)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquil)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(aril)(heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, diheterocicliclaminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(alquil)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(aril)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos; grupos -(alquil)(aril)aminoalquilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquil)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo)(heterociclico), grupos heterocicliclaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arioxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -NH(alquilo), grupos -NH(arilo), grupos -N(alquilo)₂, grupos -N(arilo)₂, grupos -N(alquil)(arilo), grupos -NH(heterociclico), grupos -N(heterociclico)(alquilo), grupos -N(heterociclico)(arilo), grupos -N(heterociclico)₂, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxi sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -NHOH, grupos -N(alquil)OH, grupos -N(aril)OH, grupos -N(alquil)O-alquilo, grupos -N(aril)O-alquilo, grupos -N(alquil)O-arilo y grupos -N(aril)O-arilo; en donde la estructura de R⁸ tiene la siguiente fórmula:



y en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S, o -CN;

R⁹, R¹⁰y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

R¹² se selecciona del grupo que consiste en grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, grupos -S(=O)₂-, grupos -S(=O)₂-C-, grupos -S(=O)z-C=C-, -S(=O)₂-C=C-CH₃, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclicoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; y en donde la estructura de Q¹ o Q² se selecciona del grupo que consiste en estructuras del Grupo B, -CH₃, -OH, -O-CH₃, -C-N-C(=O)-C=C, y -C-N-C(=O)-C-F.

En modalidades ilustrativas, el compuesto se enumera en el Cuadro A/Figura. 1. En modalidades ilustrativas, el receptor tirosina cinasa se selecciona del grupo que consiste en AKT, c-Kit y el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR). En modalidades ilustrativas, el receptor tirosina cinasa es PDGFR. En modalidades ilustrativas, el PDGFR es el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- α) o el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR- β) o ambos. En modalidades ilustrativas, el PDGFR es un homodímero o heterodímero seleccionado del grupo que consiste en PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$, o cualquiera de sus combinaciones. En modalidades ilustrativas, en modalidades ilustrativas el excipiente comprende leucina y trehalosa. En modalidades ilustrativas, el polvo seco comprende partículas que tienen un diámetro

aerodinámico medio de masa menor o igual a aproximadamente 5 μm . En modalidades ilustrativas, al menos el 40 % de las partículas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa inferior a aproximadamente 3 μm . En modalidades ilustrativas, el polvo seco tiene un contenido de humedad inferior a aproximadamente el 5 % en peso de agua. En modalidades ilustrativas, el polvo seco es sustancialmente amorf.

5 En modalidades ilustrativas, el pH del polvo reconstituido es superior a 3. En modalidades ilustrativas, el valor de $T_{\text{MÁXIMO}}$ medio es de 1-60 minutos o más. En modalidades ilustrativas, el valor medio de AUC es 100.000-400.000 ng/mL*min. En modalidades ilustrativas, la concentración plasmática máxima media del compuesto ($C_{\text{MÁXIMA}}$) está dentro del intervalo de aproximadamente 100-3000 ng/mL. En modalidades ilustrativas, la vida media del compuesto 10 oscila de 100-300 minutos cuando se suministra por inhalación. En modalidades ilustrativas, la emisión es 40 % o más. En modalidades ilustrativas, la biodisponibilidad por inhalación es 10 % o más. En modalidades ilustrativas, el polvo seco se encapsula en una cápsula. En modalidades ilustrativas, la sal es una sal de cloruro, hidrocloruro, sulfato, fosfato, mesilato, bismesilato, tosilato, lactato, tartrato, malato, bisacetato, citrato, fumarato, bromato o bishidrocloruro. En modalidades ilustrativas, la composición se formula como una base libre. En modalidades ilustrativas, el compuesto de Estructura 1 posee una IC_{50} de menos de 300 nM para el receptor cinasa. En modalidades ilustrativas, la composición de polvo seco se administra al sujeto mediante administración pulmonar.

20 En modalidades ilustrativas, se usa un inhalador de polvo seco para administrar la composición de polvo seco. En modalidades ilustrativas, el inhalador de polvo seco es un inhalador de polvo seco basado en cápsulas. En modalidades ilustrativas, el inhalador de polvo seco basado en cápsulas es un inhalador monodosis. En modalidades ilustrativas, la enfermedad es hipertensión arterial pulmonar (PAH) y la PAH se selecciona del grupo que consiste en PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, BMPR2, ALK1, endoglinina asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, endoglinina no asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, PAH inducida por fármacos y PAH inducida por toxinas, PAH asociada con esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, VIH, hepatitis e hipertensión portal.

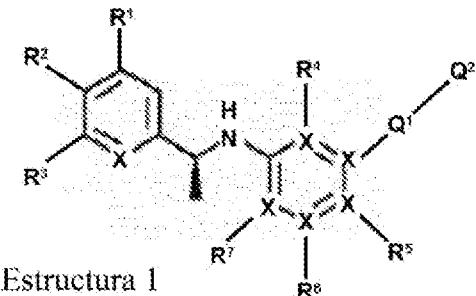
25 En modalidades ilustrativas, la PAH es secundaria a hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, enfermedad venooclusiva pulmonar (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), hipertensión pulmonar de enfermedad del corazón izquierdo, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipoventilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroides, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante e insuficiencia renal crónica en diálisis.

30 40 En modalidades ilustrativas, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en cáncer, cáncer metastásico, VIH, hepatitis, PAH, PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, BMPR2, ALK1, endoglinina asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, endoglinina no asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, PAH inducida por fármacos y PAH inducida por toxinas, PAH asociada con esclerosis sistémica y enfermedad mixta del tejido conectivo, hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente en recién nacidos, enfermedad venooclusiva pulmonar (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), enfermedad del corazón izquierdo, hipertensión pulmonar, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, COPD, trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipoventilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroides, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante e insuficiencia renal crónica en diálisis.

45 55 En modalidades ilustrativas, el tratamiento comprende mejorar la clasificación funcional de PAH de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de un sujeto, y en donde la mejora es de clase IV a clase III, II o I, o una mejora de clase III a clase II o I, o una mejora de clase II a clase I. En modalidades ilustrativas, la inhibición es efectiva en el tratamiento de uno o más de un trastorno pulmonar, hipertensión arterial pulmonar (PAH), PAH asociada con lesiones plexiformes y/o neointimales, PAH asociada con fibrosis pulmonar y/o vaso degeneración progresiva, PAH asociada con enfermedad pulmonar intersticial o fibrosis pulmonar, proliferación anormal de fibroblastos y/o miofibroblastos, o trastornos vasculares pulmonares asociados con proliferación anormal de células endoteliales, o cualquiera de sus combinaciones.

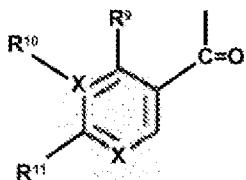
60 65 En un aspecto, la presente descripción es un método para preparar una formulación en polvo seco de partículas secadas por aspersión que comprende: (a) preparar una materia prima que comprende: (i) un compuesto inhibidor

no selectivo del receptor tirosina cinasa (RTK) de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos; y (ii) un excipiente hidrófobo seleccionado del grupo que consiste en triptófano, tirosina, leucina, trileucina, isoleucina y fenilalanina, un azúcar tal como lactosa, manitol, trehalosa, rafinosa, maltodextrina o cualquiera de sus combinaciones, o un fosfolípido tal como DSPC con o sin cloruro de calcio; y (b) secar por aspersión la materia prima para proporcionar la formulación, en donde las partículas comprenden el excipiente hidrófobo, una combinación del excipiente hidrófobo y un azúcar, o un fosfolípido con o sin cloruro de calcio y el compuesto inhibidor del receptor tirosina cinasa no selectivo (RTK) de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, en donde la Estructura 1 tiene la siguiente fórmula:



en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S o -CN;
 R¹, R²y R³ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, grupos -C(=O)R⁸, grupos -N-C(=O)R⁸, grupos -C-N-C(=O)R⁸, N-C(=O)-N-R⁸, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos, grupos R⁸ sustituidos y no sustituidos sustituidos con uno o más de R⁹, R¹⁰y R¹¹, grupos urea sustituidos y no sustituidos, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;
 R⁴, R⁵, R⁶y R⁷, pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, grupos -C=N, -C=N, grupos -C-N-C-, grupos -C-N-C(=O)-, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclilalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos diarilamino sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)amino sustituidos y no sustituidos, -C(=O)H, grupos -C(=O)-alquilo, grupos -C(=O)-arilo, grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, -C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)-arilo,-C(=O)NH₂, grupos -C(=O)NH(alquilo), grupos -C(=O)NH(arilo), grupos -C(=O)N(alquilo)₂, grupos -C(=O)N(arilo)₂, grupos -C(=O)N(alquilo)(arilo), grupos -C(=O)O-alquilo, grupos -C(=O)O-arilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O)-N (heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(aril)(heterociclico), grupos heterociclilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliloxialquilo sustituidos y no sustituidos, diheterociclilaminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(alquilo)aminoalquilo sustituido y no sustituido, (heterociclico)(aril)aminoalquilo sustituido y no sustituido, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliloxialquilo sustituidos y no sustituidos; grupos -(alquil)(aril)aminoalquilo, grupos -C(=O)-heterociclico, grupos -C(=O)-O-heterociclico, grupos -C(=O)NH(heterociclico), grupos -C(=O) -N(heterociclico)₂, grupos -C(=O)-N(alquilo)(heterociclico), grupos -C(=O)-N(arilo) (heterociclico), grupos heterociclilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos hidroxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arloxialquilo sustituidos y no sustituidos, y grupos heterocicliloxialquilo sustituidos y no sustituidos, grupos -NH(alquilo), grupos -NH(arilo), grupos -N(alquilo)₂, grupos -N(arilo)₂, grupos -N(alquilo)(arilo), grupos -NH(heterociclico), grupos -

N(heterociclico)(alquilo), grupos -N(heterociclico)(arilo), grupos -N(heterociclico)₂, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alcoxi sustituidos y no sustituidos, grupos ariloxi sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -NHOH, grupos -N(alquil)OH, grupos -N(aril)OH, grupos -N(alquil)O-alquilo, grupos -N(aril)O-alquilo, -grupos N(alquil)O-arilo y grupos -N(aril)O-arilo; en donde la estructura de R⁸ tiene la siguiente fórmula:



y en donde X se selecciona independientemente de C, N, O, S, o -CN; R⁹, R¹⁰y R¹¹ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, C, N, O, S, Cl, Br, F, I, -CN, -NO₂, -OH, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -C(=O)-, -C-N-R¹², -C=N, -C-N-C(=O)-C-F, -C-N-C(=O)-C=C, grupos alquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos heterociclicalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aryl)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos arilamino sustituidos y no sustituidos, y grupos dialquilamino sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos;

R¹² se selecciona del grupo que consiste en grupos -C(=O)-, grupos -C(=O)-C-, -C(=O)-C=C, grupos -S(=O)₂-, grupos -S(=O)₂-C-, grupos -S(=O)z-C=C-, -S(=O)₂-C=C-CH₃, -OH, grupos alcoxi, grupos ariloxi, grupos amidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos guanidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios sustituidos y no sustituidos, grupos arilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquenilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquinilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclico sustituidos y no sustituidos, grupos aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos alquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos dialquilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos arilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos diarilaminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos (alquil)(aril)aminoalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos heterociclicalalquilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano sustituidos y no sustituidos, grupos pirimidinilo sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(arilo) sustituidos y no sustituidos, grupos ciano(heterociclico) sustituidos y no sustituidos, y grupos cianopirimidinilo sustituidos y no sustituidos; y en donde la estructura de Q¹ o Q² se selecciona del grupo que consiste en estructuras del Grupo B, -CH₃, -OH, -O-CH₃, -C-N(C(=O)-C=C, y -C-N-C(=O)-C-F. En modalidades ilustrativas, el compuesto de estructura 1 es un compuesto enumerado en el Cuadro A/Figura 1. En modalidades ilustrativas, el compuesto de estructura 1 es un compuesto enumerado en el Cuadro A/Figura 1. En modalidades ilustrativas, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar parenquimatosa, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar e hipertensión pulmonar asociada con fibrosis pulmonar. En modalidades ilustrativas, la enfermedad se trata con uno o más compuestos de estructura 1.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un gráfico que representa las concentraciones IC₅₀ para Imatinib y PK10453 (Estructura 2). La Figura 1A muestra que la IC₅₀ de Imatinib contra PDGFR α es 71 nM, mientras que la Figura 1B muestra una IC₅₀ para PK10453 contra PDGFR α de 35 nM. La Figura 1C, además, muestra que la IC₅₀ de Imatinib para PDGFR β es 607 nM, mientras que la Figura 1D muestra una IC₅₀ para PK10453 contra PDGFR β de 10,1 nM.

La Figura 2 muestra gráficos e imágenes de ensayos Western en célula (ICW) que demuestran que la IC₅₀ más baja de PK10453 (Estructura 2) contra PDGFBB estimuló la fosforilación de AKT en Ser473 y Thr308 en comparación con Imatinib en fibroblastos de pulmón fetal humano. Las Figuras 2A-B muestran que la estimulación con PDGFAA de pAKT(S473) y pAKT(T308), respectivamente, en HLF fue bloqueada por PK10453 (■) e Imatinib (▲) con una IC₅₀ comparable entre 0,3-0,6 μM. La Figura 2C muestra que la estimulación con PDGFBB de pAKT(Ser473) fue bloqueada por PK10453 (■) con una IC₅₀ de 0,13 μM en comparación con 1,8 μM para Imatinib (▲). La Figura 2D muestra que la estimulación con PDGFBB de pAKT(Thr308) fue bloqueada por PK10453 (■) con una IC₅₀ de 0,43 μM en comparación con 3,25 μM para imatinib (▲). La Figura 2E muestra ejemplos de ICW para la fosforilación de AKT estimulada por PDGFAA y PDGFBB, PK10453 frente a Imatinib. La señal a 800 nm está codificada en color verde y representa la señal específica de la fosfoproteína; la señal a 700 nm está codificada en color rojo y representa la señal de AKT total. Como se muestra, las señales de 800 y 700 nm están superpuestas ($\$ p<0,01$; * $p<0,001$).

La Figura 3 representa imágenes de fluorescencia de secciones congeladas de pulmón de rata (lóbulos superior, medio e inferior derechos) después de 2 minutos de inhalación del trazador PK10453 (Estructura 2) e IR780. La adquisición de imágenes se produjo a 800 nm (verde), que es la λ de la detección de IR780, mientras que la adquisición de imágenes a 700 nm (rojo) representa la auto fluorescencia del tejido. Se muestran los intervalos de la regla digital (1 cm).

La Figura 4 muestra datos gráficos para PK10453 intravenoso (IV) e inhalado (INH) (Estructura 2). La Figura 4A es un gráfico farmacocinético (PK) relativo a PK10453 administrado por vía intravenosa y concentraciones asociadas en los pulmones y plasma en función del tiempo. La Figura 4B es un gráfico PK relativo a PK10453 administrado INH y los niveles asociados en los pulmones y plasma por vez.

La Figura 5 representa el efecto de PK10453 (Estructura 2) sobre la presión sistólica del ventrículo derecho (VD) y la hipertrofia del VD en los sistemas modelo MCT y MCT+PN. La Figura 5A es un gráfico que muestra el efecto de PK10453 sobre la presión sistólica del VD en el modelo MCT, donde C (n=3), V (n=2), D2 (n=6), D4 (n=6) y D8 (n=5) representan respectivamente los tiempos de control, vehículo, exposición de 2 min, exposición de 4 min y exposición de 8 min, durante dos semanas, tres veces al día. Los asteriscos (*) indican p<0,001 y los símbolos de sección (\$) indican p<0,05. La Figura 5B es un gráfico que muestra el efecto de PK10453 sobre la hipertrofia del VD en el modelo MCT, donde los tratamientos de inhalación se iniciaron tres semanas después de la administración de MCT. C, D2, D4 y D8 representan respectivamente controles, tiempos de exposición de 2, 4 y 8 minutos, durante dos semanas, tres veces al día. Los asteriscos (*) indican p<0,001. La Figura 5C es un gráfico que muestra el efecto de PK10453 sobre la presión sistólica del VD (RVSP) en el modelo MCT en ratas: comparación de PK10453 con imatinib; # p<0,01. La Figura 5D muestra la relación Lumen/Medio en el modelo MCT de PK10453, Imatinib y vehículo: Vehículo (V, n=4): 0,55 ± 0,1; PK10453 (D8, n=12): 0,94 ± 0,08; Imatinib (I8, n=5): 0,99 ± 0,07; § p<0,05, # p<0,01.

La Figura 6 muestra gráficos para estudios de telemetría en el modelo MCT+PN en ratas. La Figura 6A es un gráfico que muestra la presión sistólica de la arteria pulmonar medida a lo largo del tiempo en sujetos ambulatorios mediante el uso del sistema modelo MCT+PN con PK10453. V (n=5) y D4 (n=6) representan respectivamente el vehículo y la exposición de 4 minutos a PK10453 (Estructura 2) tres veces al día. Los asteriscos (*) indican p<0,001 y los símbolos de sección (\$) indican p<0,01. La Figura 6B es un gráfico que muestra la presión sistólica de la arteria pulmonar medida a lo largo del tiempo en sujetos ambulatorios mediante el uso del sistema modelo MCT+PN con Imatinib. V=vehículo; I=Imatinib (p=NS).

La Figura 7 representa gráficos relacionados con análisis hemodinámicos y morfométricos en el modelo MCT+PN en ratas. La Figura 7A muestra la presión sistólica del VD: V (n=9) RVS, 75,7 ± 7,1 mm Hg, grupo D4 (n=10) RVS 40,4 ± 2,7 mm Hg, D8 (n=8) RVS 43 ± 3,0 mm Hg (p<0,001 V frente a D4 y V frente a D8). La Figura 7B muestra que la hipertrofia del VD disminuyó mediante el tratamiento con PK10453 (Estructura 2); relación (VD+IVS)/VI: V (n=11); D4 (n=13); D8 (n=7); *p<0,001, §p<0,05. La Figura 7C muestra el modelo MCT+PN en ratas, la relación área del lumen/área del medio fue mayor en los grupos tratados con D8 (n=5) en comparación con PK10453 D4 (n=6) y vehículo (n=6); *p<0,0001 D8 frente a V, D8 frente a D4. La Figura 7D muestra análisis de oclusión, que se realizaron en las mismas muestras de animales usadas para el análisis de la relación lumen/medio. El análisis de oclusión mostró una disminución significativa en las lesiones de grado 2 (>50 % oclusivas) en el grupo D8 (#p<0,01).

La Figura 8 ilustra el efecto de PK10453 (Estructura 2) sobre las lesiones neointimales en el modelo MCT+PN en ratas mediante imágenes microscópicas a 40X de hipertrofia de arteriola pulmonar y proliferación celular intraluminal de especímenes tratados con PK10453. La Figura 8A muestra una imagen microscópica de lesiones neointimales. La Figura 8B muestra una imagen de sujetos tratados con PK10453. La Figura 8C muestra una tinción con fosfoPDGFR β (pPDGFR β), animal tratado con vehículo, mientras que la Figura 8D muestra una tinción de pPDGFR β para animales tratados con PK10453 (D8).

La Figura 9 es un gráfico que muestra el área del lumen: área del medio, que es un aumento en los grupos tratados con D4 (n=6) y D8 (n=5) en comparación con el vehículo (n=6) mediante el modelo MCT+PN. El símbolo (\$) es p=0,032 (D4 frente a V), el símbolo (#) es p=0,028 (D8 frente a D4) y el asterisco (*) indica p=0,00014 (D8 frente a V).

La Figura 10 representa una evaluación inmunohistoquímica de muestras de MCT+PN. La Figura 10A muestra que pSTAT3 se localizó en los núcleos de células endoteliales y células perivasculares con tratamiento con vehículo. La Figura 10B muestra la señal nuclear de pSTAT3 pulmonar de un sujeto tratado con la Estructura 2.

La Figura 11 se refiere a animales tratados con vehículo (modelo MCT+PN) a 40X para tinciones de actina α SMC, tricrómica y vWF teñidas inmunohistoquímicamente, que mostraron una población mixta de células endoteliales y miofibroblastos que comprenden las lesiones neointimales y proliferativas en arteriolas pulmonares en lesiones de grado 0, 1, y 2: Las lesiones de grado 0 se caracterizaron por una proliferación temprana de células endoteliales intraluminales y la presencia de células de músculo liso vascular en el medio (Figura 11A, tinción α SMC; Figura 11D, tricrómica; Figura 11G, vWF). Las lesiones de grado 1-2 tenían extensas células

- intraluminales similares a miofibroblastos, algunas células endoteliales y fibrosis parcial de la capa media (Figura 11B, α SMC; Figura 11E, tricrómica; Figura 11H, vWF). Las lesiones avanzadas de grado 2 se caracterizaron por una extensa proliferación intraluminal de células endoteliales y similares a miofibroblastos y un reemplazo fibrótico completo de la capa media (Figura 11C, α SMC; Figura 11F, tricrómica; Figura 11I, vWF). La flecha larga apunta al espacio intraluminal con lesiones proliferativas y la flecha corta apunta a la capa medial de las arteriolas pulmonares.
- La Figura 12 muestra la señalización de PDGFR a 40X en el modelo de MCT+ PN en ratas. Las Figuras 12A-F muestran PDGFAA en una arteriola pulmonar (A); PDGFBB (B); PDGFR α total (C); PDGFR β total (D); fosfoPDGFR α (pPDGFR α ; E); y pPDGFR β (F). La intensidad de la señal fue mayor para PDGFBB, PDGFR β y especialmente pPDGFR β en comparación con PDGFAA, PDGFR α y pPDGFR α . La señal de pPDGFR β fue intensa en un patrón de adoquín en lesiones proliferativas y perivasculares neointimales. La intensidad de la señal fue relativamente baja en la capa media del vaso. Las flechas apuntan a los lúmenes de los vasos con lesiones proliferativas (las láminas son del tratamiento con vehículo).
- La Figura 13 muestra una comparación de pPDGFR α y pPDGFR β en arteriolas pulmonares más grandes mediante el uso del sistema modelo MCT+PN en ratas. Las Figuras 13A y 13B muestran respectivamente inmunohistoquímica a 20X y a 40X para la señal de pPDGFR α en el medio, donde la flecha apunta a una célula de músculo liso positiva para pPDGFR α . Las Figuras 13C y D muestran respectivamente en imágenes a 20X y a 40X que, por el contrario, con lo anterior, había muy poca señal en el medio para pPDGFR β . La señal para pPDGFR β se observa en las células perivasculares (parte superior izquierda - Figuras 13C y D) y en las células endoteliales.
- La Figura 14 muestra los inmunoensayos NanoPro mostrados para el modelo MCT+PN. La Figura 14A muestra pAKT (Thr308) y AKT total, con tratamiento con vehículo. La Figura 14B muestra pAKT (Thr308) y AKT total con tratamiento con PK10453, mientras que la Figura 14C muestra pAKT (Ser473) y AKT total, con tratamiento con vehículo. La Figura 14D muestra pAKT(Ser473) y AKT total con tratamiento con PK10453, mientras que la Figura 14E muestra que la relación pAKT(Thr308)/AKT en extractos de pulmón no fue significativamente diferente entre los grupos (V=vehículo; D4=exposición de 4 minutos 3X/día durante 2 semanas, D8=exposición de 8 minutos 3X/día durante dos semanas, p=NS). La Figura 14F representa la relación pAKT(Ser473)/AKT en extractos de pulmón para el grupo D8 frente a vehículo (V, n=5; D4, n=4; D8, n=5) $\S p<0,05$ D8 frente a V.
- La Figura 15 revela resultados de experimentos que emplean el lumograma de inmunoensayo NanoPro para pSTAT3 y STAT3 en el modelo MCT+PN. La Figura 15A es un gráfico de los sujetos tratados con vehículo. La Figura 15B es un gráfico de los sujetos tratados con PK10453 (Estructura 2). La Figura 15C muestra un gráfico del tratamiento con PK10453, que disminuyó pSTAT3/STAT3 en los pulmones de sujetos mediante el uso del modelo MCT+PN (n=4), donde V representa vehículo, D4 representa tiempos de exposición de 4 min tres veces al día y D8 representa tiempos de exposición de 8 min durante dos semanas tres veces al día; 3x/día durante dos semanas de PK10453. Los asteriscos (*) p=0,009 y los símbolos de sección (\$) indican p=0,024.
- La Figura 16 muestra los resultados de experimentos mediante el uso de los lumogramas del inmunoensayo Nanopro para fosfoERK1/2 (pERK1/2) y ERK1/2 total en el modelo MCT+PN. La Figura 16A muestra pERK1/2 en sujetos tratados con vehículo. La Figura 16B muestra pERK1/2 en sujetos tratados con PK10453. La Figura 16C muestra ERK1/2 total y sujetos tratados con vehículo. La Figura 16D muestra ERK1/2 total en sujetos tratados con PK10453, donde PK10453 disminuyó ppERK1/ERK1. La Figura 16E muestra ppERK1/ERK1 en sujetos como se indica. La Figura 16F muestra pERK2/ERK2 como se indica. La Figura 16G muestra ppERK2/ERK2 como se indica en los pulmones. La Figura 16H muestra pERK2/ERK2 como se indica en los pulmones. El n=4 para cada grupo, mientras que V representa el vehículo, D4 representa tiempos de exposición de 4 min, tres veces al día, y D8 representa tiempos de exposición de 8 min de PK10453 (Estructura 2) durante dos semanas, tres veces al día. Asteriscos (*) p≤0,0005; § p=0,045.
- La Figura 17 es una representación gráfica que muestra el efecto de imatinib, PK10453 (Estructura 2) y PK10571 (Estructura 2a) sobre la fosforilación estimulada por PDGFAA frente a PDGFBB de ERK1 y ERK2 en fibroblastos de pulmón fetal humano. Ver la Figura 17A-D.
- La Figura 18A-D es una representación gráfica de compuestos PK: PK10453 (Estructura 2), PK10467 (Estructura 3), PK10468 (Estructura 4), PK10569 (Estructura 5) y PK10571 (Estructura 2a), lo que muestra que todos los compuestos PK poseen una concentración IC₅₀ más baja en comparación con imatinib para inhibir la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB en fibroblastos de pulmón humano fetal.
- La Figura 19 es una representación gráfica del peso corporal del sujeto en sujetos administrados con vehículo y tratados con PK10453 (Estructura 2), donde los cuadrados indican tratado con vehículo (n=10), los triángulos indican el grupo PK10453 D4 (n=10) y los diamantes indican el grupo PK10453 D8 (n=6).

La Figura 20 es un gráfico que representa datos del transmisor de telemetría PAC40 de transmisores implantados en la aorta abdominal para monitorear la presión arterial sistémica durante siete días en sujetos ambulatorios expuestos a MCT tratados con vehículo ($n=3$) o PK10453 ($n=3$).

5 La Figura 21 es un gráfico que muestra la curva de calibración usada para determinar las concentraciones de PK10571 en los SDD. Las concentraciones se expresan en $\mu\text{g/mL}$.

10 La Figura 22 muestra un ejemplo de MDSC para PK04 que muestra la temperatura de transición vítreo (T_g) a 101 °C.

15 La Figura 23 es una micrografía electrónica de barrido de PK004 SDD que contiene PK10571 y L-leucina. La morfología es la de esferas con hoyuelos.

20 La Figura 24 es una micrografía electrónica de barrido de PK61914 SDD que contiene PK10571 con excipientes trehalosa y leucina. La morfología es la de esferas onduladas/estriadas.

25 La Figura 25 muestra la IC50 frente a los dominios de PDGFR alfa frente a beta cinasa. PK10453 y 10571 son más potentes que imatinib contra la isoforma beta.

30 La Figura 26 muestra pAKT estimulada por PDGF BB en fibroblastos de pulmón humano. Cada ensayo, cada concentración, se realiza por duplicado. PK10453 IC50 0,15 μM . PK10571 IC50 0,05 μM . Como mostramos en nuestra publicación reciente en Pulmonary Circulation, la IC50 para la inhibición de la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB por imatinib fue 1,8 μM .

35 La Figura 27 es un transcurso de tiempo durante el cual se desarrolla la hipertensión pulmonar en el modelo MCT+PN en comparación con el modelo solo MCT. A. Tiempo de estudio del tratamiento farmacológico con PK10453 iniciado (Ver *Pulm Circ* 2014 8(1):82-102). B. Tiempo de estudio del tratamiento con PK10571 SDD iniciado en el modelo MCT+PN. C. Hora de inicio típica para el modelo solo MCT. Datos adquiridos mediante monitoreo por telemetría de las presiones de la AP en ratas ambulatorias. (Nota: No se muestran los datos del día 11 en el modelo MCT+PN).

40 La Figura 28 es un gráfico que muestra la reducción de la presión de la AP a lo largo del tiempo en ratas MCT+PN tratadas con el grupo tratado con PK10571 inhalado ($n=5$). Datos de presión de los implantes de telemetría PAC40 en la AP. El grupo de vehículo fue $n=7$ pero 4 animales de vehículo murieron entre los días 2 y 4 de tratamiento. Ver texto para más detalles. Los datos mostrados son la media $\pm\text{SE}$. * $p\leq 0,05$ ANOVA de medidas repetidas (nota: día 1 PK10571 frente a vehículo $p=\text{NS}$); Se perdieron algunos archivos de datos del día 6 para el grupo de fármaco, excepto para 1 animal, por lo que este punto de datos no se pudo usar para el análisis. (Día 1 de tratamiento = Día 21 después del MCT; Día 31 después de la neumonectomía).

45 La Figura 29 es un gráfico que muestra PK10571 en el modelo MCT+PN: pre y posterior a la dosis (aproximadamente 1 hora). Datos mostrados para el tratamiento del día 1-6. Se observó una disminución transitoria en la presión sistólica de la arteria pulmonar después de la dosis en la etapa inicial del tratamiento (es decir, hasta el día 4), aunque este efecto transitorio de la dosis pareció disminuir más adelante en el tratamiento mientras que la presión sistólica general de la AP disminuyó. Estos datos sugieren efectos vasodilatadores y antiproliferativos de PK10571, estos últimos son probablemente los más importantes.

50 La Figura 30 es un gráfico que muestra la eficacia de PK10571 inhalado en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH. NL= control normal; H1= SU5416+1 semana de hipoxia; H2/N2=SU5416+ 2 semanas de hipoxia y 12 días de normoxia con vehículo inhalado dos veces al día durante 11 días de normoxia (el vehículo se inició el día 2 de normoxia); H3/N2= SU5416+3 semanas de hipoxia y 2 semanas de normoxia; H2/N2+D= SU5416+2 semanas de hipoxia y 12 días de normoxia y tratamiento con PK10571 inhalado dos veces al día durante 11 días de normoxia. (El tratamiento farmacológico se inició el día 2 de normoxia). PK10571 inhalado produjo una disminución significativa en la presión sistólica final del VD en comparación con los animales tratados con vehículo (H2/N2). No hubo diferencias significativas entre los grupos H2/N2 y H3/N2. Análisis estadístico: ANOVA con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

55 La Figura 31 es un gráfico que muestra SU5416/hipoxia (2 semanas) /normoxia (12 días); las presiones de la AP se monitorearon continuamente en $n=3$ animales tratados con PK10571 dos veces al día. El tratamiento se inició el día después de su eliminación de la cámara de hipoxia (día 2). En nuestra experiencia, hay una caída inicial en la presión de la AP en las primeras 24 horas después de la eliminación de la cámara de hipoxia y la introducción a la atmósfera normal. Por lo tanto, comenzamos el tratamiento farmacológico el día 2 después de la eliminación de la cámara de hipoxia y continuamos el tratamiento durante 10 días. El día 12, los animales se sometieron a eutanasia y recolección de tejido. Se muestran la presión sistólica de la AP antes de la dosificación diaria (azul) y la presión sistólica de la AP aproximadamente 1 hora después de la dosificación (naranja). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de medidas repetidas y la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

*p<0,0001 día 6,7, 9-12 frente a día 2 y 4. Otras comparaciones significativas Día 1 frente a 2,4,5-12 p<0,0001; Día 5 frente a Día 11 p=0,002.

- 5 La Figura 32 es una microCT 3D de la vasculatura arterial pulmonar después del tratamiento con nitroprusiato de sodio en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH. Animal tratado con vehículo a la izquierda. Animal tratado con PK10571 a la derecha. Resolución: 20 micras.
- 10 La Figura 33 es una micrografía electrónica de barrido de PK10571 secado por aspersión con excipiente leucina.
- 15 La Figura 34 muestra que el diámetro aerodinámico medio de masa se determinó con un impactador en cascada NGI: T= "garganta"; PS= preseparador. 1-8= Etapas del impactador en cascada NGI. MMAD=Diámetro aerodinámico medio de masa; GSD= desviación estándar geométrica. Aquí, PK10571 se secó por aspersión con DSPC, donde la temperatura de transición vítreo observada para PK013 PK10571-DPSC (S142533) fue 67 °C.
- 20 La Figura 35 muestra una micrografía electrónica de barrido de PK10571 con excipiente DSPC.
- 25 La Figura 36 es un gráfico que muestra la distribución del tamaño de partículas del polvo seco por aspersión de PK10571/DSPC. Impactador en cascada NGI usado a 60 L/min durante 4 segundos. Cápsula de HPMC cargada en inhalador monodosis. MMAD = 2,5 micras GSD 1,6.
- 30 La Figura 37 es un cuadro que identifica la nomenclatura, estructura y peso molecular (MW) de los compuestos.
- 35 La Figura 38 es un gráfico que muestra datos de IC50 de los compuestos para PDGFR α .
- 40 La Figura 39 es un gráfico que muestra datos de IC50 de los compuestos para PDGFR β , donde: PK105R=PK10571 mezcla racémica; PK105=PK10571; PK19=PK1019; PK23=PK1023; y PK24=PK1024.
- 45 La Figura 40 ilustra pPDGFrBeta (Y751; Figura 40A; Y1021 Figura 40B) y β -actina, privados y reprobados con PDGFrBeta total.
- 50 La Figura 41 es un gráfico que muestra que se suministró polvo seco de PK10571 por inhalación a ratas Sprague Dawley con hipertensión pulmonar inducida por neumonectomía monocrotalina asociada con fibrosis pulmonar.
- 55 La Figura 42 es una tinción tricrómica de secciones de pulmón de un animal tratado con vehículo en comparación con un animal tratado con PK10453 en un modelo de monocrotalina más neumonectomía en ratas. El color azul indica colágeno.

Descripción detallada

- 60 La hipertensión arterial pulmonar (PAH) es una enfermedad huérfana asociada con una alta morbilidad y mortalidad. Con el tratamiento estándar actualmente disponible, se informó que la supervivencia a tres años en pacientes con PAH idiopática (iPAH) era 84 %, pero sólo 49 % en pacientes con PAH secundaria a esclerodermia.¹⁻³ A pesar de los avances recientes en la terapia vasodilatadora para la PAH, se necesitan tratamientos más efectivos.⁴⁻¹⁵ Los compuestos de la presente descripción, que incluyen PK10571, son inhibidores muy potentes del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR). PDGFR es un receptor tirosina cinasa que, cuando es activado por su agonista, induce la proliferación celular.¹⁷⁻¹⁹ Se ha demostrado que el aumento de la señalización de PDGFR desempeña un papel en la patogénesis de la PAH, y se ha demostrado que la inhibición de esta vía mejora la hemodinámica cardiopulmonar en pacientes con PAH²⁰⁻²². Un reciente ensayo de fase III de imatinib oral (un modesto inhibidor de PDGFR y ABL) para la PAH alcanzó su criterio de valoración principal²³. Sin embargo, el imatinib administrado por vía oral se asoció con efectos secundarios sistémicos importantes, que incluyen efectos secundarios gastrointestinales, supresión de la médula ósea y aumento del sangrado²⁴.
- 65 El desarrollo de PK10571 (Estructura X) y compuestos relacionados para el suministro pulmonar directo, por ejemplo, polvos secos por aspersión (SDP), que también se denominan dispersiones secas por aspersión (SDD), imparte indicaciones terapéuticas que poseen dosis sistémicas terapéuticamente eficaces más bajas y una ventaja terapéutica mejorada para esta clase de fármacos. Cuando se administra en consecuencia, hay un nivel de fármaco 45 veces mayor presente en el pulmón, en comparación con la administración intravenosa, es decir, una ventaja terapéutica 45 veces mayor.¹⁶ Los compuestos tales como PK10571 tienen potencia y selectividad similares frente al receptor PDGFR, tales como, por ejemplo, PK10453 (Estructura Y), mayor potencia en ensayos basados en células de señalización de PDGFBB, ningún efecto adverso sobre la permeabilidad endotelial o la función de barrera de la arteria pulmonar sana, una vida media más prolongada *in vivo* que PK10453 y eficacia preclínica superior. Ver las Figuras 21-26.
- 70 El desarrollo de un fármaco para el tratamiento inhalado de la PAH requiere atención a requisitos de formulación específicos, tales como, por ejemplo, el producto farmacéutico se debe formular para generar una partícula inhalable estable que se pueda depositar en el pulmón cuando se inhala. Además, en el caso de la PAH, el fármaco

depositado también debe ejercer un efecto sobre la vasculatura pulmonar y, en particular, sobre las arterias y arteriolas pulmonares. La formulación también debería ejercer un efecto terapéutico al reducir la presión arterial pulmonar, disminuir la resistencia vascular pulmonar o disminuir los hallazgos patológicos de la enfermedad en el pulmón o la circulación, tales como la fibrosis pulmonar.

- 5 La eficacia se muestra en pacientes mediante una variedad de indicadores, tales como, por ejemplo, biomarcadores que incluyen PDGF AA, PDGF BB o PDGF AB, disminución de la resistencia vascular pulmonar y/o hipertensión pulmonar medida mediante cateterismo cardíaco, disminución de la hipertensión pulmonar medida mediante ecocardiografía, mejora en la función ventricular derecha medida por ecocardiografía o MRI, disminución de la actividad metabólica pulmonar medida por exploración PET, aumento de la capacidad de ejercicio medida por una distancia de caminata de seis minutos, prueba de ejercicio cardiopulmonar, aumento del tiempo hasta el empeoramiento clínico, aumento de la supervivencia, disminución número de hospitalizaciones, menor necesidad de añadir medicamentos adicionales para el tratamiento, menor necesidad de trasplante de pulmón y/o menor necesidad de septostomía auricular.
- 10 15 La presente descripción también se refiere, entre otros, a una nueva clase de compuestos que funcionan como inhibidores de cinasas. Igualmente, en la presente descripción se describen métodos para usar tales compuestos en la prevención y el tratamiento de enfermedades. La presente descripción se refiere además a formulaciones farmacéuticas de los compuestos, que poseen indicaciones profilácticas y/o terapéuticas para sujetos que necesitan inhibidores de cinasas, por ejemplo, pacientes que padecen enfermedad vascular, trastornos proliferativos, cánceres y enfermedades o afecciones relacionadas, como se detalla más abajo. Las definiciones de ciertos términos como se usan en esta descripción se proporcionan más abajo. A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen, generalmente, el mismo significado que el conocido comúnmente por aquellos expertos en la técnica a la que pertenece esta invención.
- 20 25 Como se usa en esta descripción y las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un," "una" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contenido lo dicte claramente de cualquier otra manera. Por ejemplo, la referencia a "un aminoácido" incluye una combinación de dos o más ácidos nucleicos. Además, como se usa en la presente descripción, las siguientes abreviaturas tienen ciertos significados como se detalla más abajo.
- 30 35 Como se usa en la presente descripción, "aproximadamente" será comprendido por las personas expertas en la técnica y variará, en alguna medida, en dependencia del contexto en el cual se use. Si hay usos del término que no resultan claros para las personas expertas en la técnica, dado el contexto en el que se usa, "aproximadamente" significará hasta más o menos 10 % del valor enumerado.
- 40 45 Como se usan en la presente descripción, los siguientes compuestos PK y designaciones de estructuras se usan indistintamente en toda la solicitud: PK10453 = Estructura 2; PK10571 = Estructura 2a; PK10467 = Estructura 3; PK10468 = Estructura 4; y PK10569 = Estructura 5.
- 50 55 Como se usa en la presente descripción, la "administración" de un agente o fármaco, por ejemplo, uno o más compuestos inhibidores de cinasas, a un sujeto o sujetos incluye cualquier vía de introducción o suministro a un sujeto de un compuesto para realizar su función prevista. La administración se puede realizar por cualquier vía adecuada, que incluye oral, intranasal, por inhalación, parenteral (intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea), rectal o tópica. La administración incluye la autoadministración y la administración por otro. También se debe apreciar que los diversos modos de tratamiento o prevención de afecciones médicas como se describió pretenden significar "sustancial", que incluye tratamiento o prevención total pero también menos que total, y donde se logra algún resultado biológicamente o médicalemente relevante.
- 60 65 Como se usan en la presente descripción, los términos "comparable" o "correspondiente" en el contexto de comparar dos o más muestras, respuestas al tratamiento o fármacos, se refieren al mismo tipo de muestra, respuesta, tratamiento y fármaco respectivamente usados en la comparación. Por ejemplo, el estado o nivel de fosforilación de AKT (pAKT) en una muestra se puede comparar con el estado o nivel de fosforilación en otra muestra. En algunas modalidades, se pueden obtener muestras comparables del mismo individuo en diferentes momentos. En otras modalidades, se pueden obtener muestras comparables de diferentes individuos, por ejemplo, un paciente y un individuo sano. En general, las muestras comparables se normalizan mediante un factor común con fines de control.
- Como se usa en la presente descripción, el término "composición" se refiere a un producto con los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como también a cualquier producto que resulta, directamente o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.
- Como se usa en la presente descripción, los términos "fármaco", "compuesto", "agente activo", "agente", "activos", "composición farmacéutica", "formulación farmacéutica" y "agente farmacológicamente activo" se usan indistintamente y se refieren a cualquier compuesto, complejo o composición químico, cargado o no cargado, que es adecuado para su administración y que tiene un efecto biológico beneficioso, adecuadamente un efecto terapéutico en el tratamiento de una enfermedad o afección fisiológica anormal, aunque el efecto también puede ser de naturaleza profiláctica. Los términos también abarcan derivados farmacológicamente activos y farmacéuticamente

aceptables de aquellos agentes activos específicamente mencionados en la presente descripción, que incluyen sales, ésteres, amidas, profármacos, metabolitos activos y análogos. Cuando se usan los términos "agente activo", "agente farmacológicamente activo" y "API" (ingrediente farmacéutico activo), entonces, o cuando se identifica específicamente un agente activo particular, se debe entender que los solicitantes pretenden incluir el agente activo agente per se, así como también sales, ésteres, amidas, profármacos, metabolitos, análogos, etc., farmacéuticamente aceptables y farmacológicamente activos.

Como se usa en la presente descripción, los términos "cantidad efectiva" o "cantidad farmacéuticamente efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" de una composición, es una cantidad suficiente para lograr un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, por ejemplo, una cantidad que da como resultado la prevención de, o una disminución en los síntomas asociados con una enfermedad que se trata. La cantidad de una composición de la invención administrada al sujeto dependerá del tipo y la gravedad de la enfermedad y de las características del individuo, tales como la salud general, la edad, el sexo, el peso corporal y la tolerancia a los fármacos. Además, dependerá del grado, la gravedad y el tipo de enfermedad. El experto será capaz de determinar las dosis apropiadas en dependencia de estos y otros factores. Las composiciones de la presente descripción también se pueden administrar en combinación con uno o más compuestos terapéuticos adicionales.

Como se usa en la presente descripción, los términos "irreversible" o "irreversiblemente" cuando se refieren a un inhibidor de cinasa significan un inhibidor de la actividad de una cinasa, tirosina cinasa y/o RTK, que está covalentemente, es decir, permanentemente, unida o asociada con tal cinasa.

Como se usa en la presente descripción, el término "enfermedad neoplásica" se refiere a cánceres de cualquier tipo y origen y etapas precursoras de los mismos. En consecuencia, el término "enfermedad neoplásica" incluye la materia identificada por los términos "neoplasia", "neoplasia", "cáncer", "precáncer" o "tumor." Una enfermedad neoplásica generalmente se manifiesta por una división celular anormal que resulta en un nivel anormal de una población celular particular. Igualmente, debido a que la expansión monoclonal de células endoteliales se puede referir a una "neoplasia" de las células endoteliales arteriolares pulmonares, la PAH también está abarcada dentro de los términos anteriores. Además, la división celular anormal que subyace a una enfermedad neoplásica es típicamente inherente a las células y no es una respuesta fisiológica normal a la infección o la inflamación. En algunas modalidades, las enfermedades neoplásicas para el diagnóstico mediante el uso de los métodos proporcionados en la presente descripción incluyen carcinoma.

Como se usa en la presente descripción, el término "no selectivo", cuando se refiere a un inhibidor de cinasa o inhibidor de receptor cinasa, significa un inhibidor de la actividad de una cinasa, tirosina cinasa, dominio y/o RTK, que no es únicamente específico de una cinasa única, receptor, tirosina cinasa, RTK o dominio, es decir, una diana afín, pero dentro del contexto de inhibición de una cinasa única, receptor, tirosina cinasa, RTK, dominio, etc., por ejemplo, para PDGFR, el inhibidor no es específico con respecto a afinidades y/o concentraciones IC₅₀ para la cinasa, receptor, tirosina cinasa, RTK, dominio, etc. Por ejemplo, PK10453 (Estructura 2) se dirige al PDGFR, de forma no selectiva, al inhibir las isoformas PDGFR-β y PDGFR-α, pero aun así puede poseer una IC₅₀ más baja para una isoforma del receptor, por ejemplo, PDGFR-β.

Como se usa en la presente descripción, el término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye una sal con una base inorgánica, una base orgánica, un ácido inorgánico, un ácido orgánico o un aminoácido básico o ácido. Como sales de bases inorgánicas, la invención incluye, por ejemplo, metales alcalinos tales como sodio o potasio; metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio o aluminio; y amoniaco. Como sales de bases orgánicas, la descripción incluye, por ejemplo, trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina y trietanolamina. Como sales de ácidos inorgánicos, la presente descripción incluye, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Como sales de ácidos orgánicos la presente descripción incluye, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido p-toluenosulfónico. Como sales de aminoácidos básicos, la presente descripción incluye, por ejemplo, arginina, lisina y ornitina. Los aminoácidos ácidos incluyen, por ejemplo, ácido aspártico y ácido glutámico.

Como se usa en la presente descripción, el término "nivel de referencia" se refiere a un nivel de una sustancia que puede ser de interés para fines comparativos. En algunas modalidades, un nivel de referencia puede ser una dosis de composición específica como un promedio del nivel de dosis de muestras tomadas de un sujeto de control. En otras modalidades, el nivel de referencia puede ser el nivel en el mismo sujeto en un momento diferente, por ejemplo, un transcurso de tiempo de administración, tal como un nivel a 2, 4, 6, 8 y 10 minutos (min), etc.

Como se usa en la presente descripción, los términos "tratar" o "tratamiento" o "alivio" se refieren al tratamiento terapéutico y medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es prevenir o ralentizar (disminuir) la afección o trastorno patológico diana. Un sujeto es "tratado" exitosamente para un trastorno si, después de recibir un agente terapéutico de acuerdo con los métodos de la presente descripción, el sujeto muestra una reducción observable y/o mensurable o ausencia de uno o más signos y síntomas de una enfermedad particular o afección.

Como se usa en la presente descripción, el término "alquilo no sustituido" se refiere a grupos alquilo que no contienen heteroátomos. Por lo tanto, la frase incluye grupos alquilo de cadena lineal tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo. La frase también incluye isómeros de cadena ramificada de grupos alquilo de cadena lineal, que incluyen los siguientes que se proporcionan a manera de ejemplo: -CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH(CH₂CH₃)₂, -C(CH₃)₃, -C(CH₂CH₃)₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₂CH₃)₂, -CH₂C(CH₃)₃, -CH₂C(CH₂CH₃)₃, -CH(CH₃)CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH₂CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂CH(CH₂CH₃)₂, -CH₂CH₂C(CH₃)₃, -CH₂CH₂C(CH₂CH₃)₃, -CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)CH(CH₃)CH(CH₃)₂, -CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)CH(CH₃)(CH₂CH₃), y otros. La frase también incluye grupos alquilo cíclicos tales como grupos cicloalquilo tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo y tales anillos sustituidos con grupos alquilo de cadena lineal y ramificada como se definió anteriormente. La frase también incluye grupos alquilo policíclicos tales como adamantilo norbornilo y biciclo[2.2.2]octilo y tales anillos sustituidos con grupos alquilo de cadena lineal y ramificada como se definió anteriormente. Por lo tanto, la frase grupos alquilo no sustituidos incluyen grupos alquilo primarios, grupos alquilo secundarios y grupos alquilo terciarios. Los grupos alquilo no sustituidos pueden estar unidos a uno o más átomos de carbono, átomos de oxígeno, átomos de nitrógeno y/o átomos de azufre en el compuesto parental. Los grupos alquilo no sustituidos preferidos incluyen grupos alquilo de cadena lineal y ramificada y grupos alquilo cíclicos que tienen de 1 a 20 átomos de carbono. Tales grupos alquilo no sustituidos más preferidos tienen de 1 a 10 átomos de carbono, mientras que tales grupos aún más preferidos tienen de 1 a 5 átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos alquilo no sustituidos incluyen grupos alquilo de cadena lineal y ramificada que tienen de 1 a 3 átomos de carbono e incluyen metilo, etilo, propilo y -CH(CH₃)₂.

Como se usa en la presente descripción, el término "alquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que uno o más enlaces a carbono(s) o hidrógeno(s) se reemplazan por un enlace a átomos distintos de hidrógeno y distintos de carbono tal como un átomo de halógeno en haluros tales como F, Cl, Br e I; un átomo de oxígeno en grupos tales como grupos hidroxilo, grupos alcoxi, grupos ariloxi y grupos éster; un átomo de azufre en grupos tales como grupos tiol, grupos sulfuro de alquilo y arilo, grupos sulfona, grupos sulfonilo y grupos sulfóxido; un átomo de nitrógeno en grupos tales como aminas, amidas, alquilaminas, dialquilaminas, arilaminas, alquilarilaminas, diarilaminas, N-óxidos, imidas y enaminas; un átomo de silicio en grupos tales como grupos trialquilsililo, grupos dialquilarilsililo, grupos alquildiarilsililo y grupos triarilsililo; y otros heteroátomos en diversos otros grupos. Los grupos alquilo sustituidos también incluyen grupos en los que uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno se reemplazan por un enlace a un heteroátomo tal como oxígeno en los grupos carbonilo, carboxilo y éster; nitrógeno en grupos tales como iminas, oximas, hidrazonas y nitrilos. En modalidades adecuadas, los grupos alquilo sustituidos incluyen, entre otros, grupos alquilo en los que uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno se reemplazan por uno o más enlaces a átomos de flúor. Un ejemplo de un grupo alquilo sustituido es el grupo trifluorometilo y otros grupos alquilo que contienen el grupo trifluorometilo. Otros grupos alquilo incluyen aquellos en los que uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno se reemplazan por un enlace a un átomo de oxígeno de manera que el grupo alquilo sustituido contiene un grupo hidroxilo, alcoxi, ariloxi o un grupo heterociclico. Otros grupos alquilo más incluyen grupos alquilo que tienen un grupo amina, alquilamina, dialquilamina, arilamina, (alquil)(aril)amina, diarilamina, heterociclicamina, (alquil)(heterociclic)amina, (aril)(heterociclic)amina o diheterociclicamina.

Como se usa en la presente descripción, el término "arilo no sustituido" se refiere a grupos arilo que no contienen heteroátomos. Por lo tanto, el término incluye grupos tales como fenilo, bifenilo, antracenilo, naftenilo a manera de ejemplo. Aunque la frase "arilo no sustituido" incluye grupos que contienen anillos condensados tales como naftaleno, no incluye grupos arilo que tienen otros grupos tales como grupos alquilo o halo unidos a uno de los miembros del anillo, ya que en la presente descripción se considera que grupos arilo tales como tolilo son grupos arilo sustituidos como se describió más abajo. Los grupos arilo no sustituidos pueden estar unidos a uno o más átomos de carbono, oxígeno, nitrógeno y/o azufre.

Como se usa en la presente descripción, el término "grupo arilo sustituido" tiene el mismo significado con respecto a los grupos arilo no sustituidos que tenían los grupos alquilo sustituidos con respecto a los grupos alquilo no sustituidos. Sin embargo, un grupo arilo sustituido también incluye grupos arilo en los que uno de los carbonos aromáticos está unido a uno de los átomos distintos de carbono o de hidrógeno descritos anteriormente y también incluye grupos arilo en los que uno o más carbonos aromáticos del grupo arilo está unido a un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo sustituido y/o no sustituido como se definió en la presente descripción. Esto incluye arreglos de enlaces en los que dos átomos de carbono de un grupo arilo están unidos a dos átomos de un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo para definir un sistema de anillos fusionados (por ejemplo, dihidronaftilo o tetrahidronaftilo). Por lo tanto, el término "arilo sustituido" incluye tolilo e hidroxifenilo, entre otros.

Como se usa en la presente descripción, el término "alquenilo no sustituido" se refiere a grupos cíclicos y de cadena lineal y ramificada tales como los descritos con respecto a los grupos alquilo no sustituidos como se definió anteriormente, excepto que existe al menos un doble enlace entre dos átomos de carbono. Los ejemplos incluyen vinilo, -CH=C(H)(CH₃), -CH=C(CH₃)₂, -C(CH₃)=C(H)₂, -C(CH₃)=C(H)(CH₃), -C(CH₂CH₃)=CH₂, ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclohexadienilo, butadienilo, pentadienilo y hexadienilo, entre otros.

- Como se usa en la presente descripción, el término "alquenilo sustituido" tiene el mismo significado con respecto a los grupos alquenilo no sustituidos que tenían los grupos alquilo sustituidos con respecto a los grupos alquilo no sustituidos. Un grupo alquenilo sustituido incluye grupos alquenilo en los que un átomo que no es de carbono o que no es de hidrógeno está unido a un carbono con doble enlace a otro carbono y aquellos en los que uno de los átomos que no son de carbono o que no son de hidrógeno está unido a un carbono que no participa en un doble enlace de carbono.
- Como se usa en la presente descripción, el término "alquinilo no sustituido" se refiere a grupos de cadena lineal y ramificada tales como los descritos con respecto a grupos alquilo no sustituidos como se definió anteriormente, excepto que existe al menos un triple enlace entre dos átomos de carbono. Los ejemplos incluyen $-C\equiv C(H)$, $-C\equiv C(CH_3)$, $-C\equiv C(CH_2CH_3)$, $-C(H_2)C\equiv C(H)$, $-C(H)_2C\equiv C(CH_3)$, y $-C(H)_2C\equiv C(CH_2CH_3)$, entre otros.
- Como se usa en la presente descripción, el término "alquinilo sustituido" tiene el mismo significado con respecto a los grupos alquinilo no sustituidos que tenían los grupos alquilo sustituidos con respecto a los grupos alquilo no sustituidos. Un grupo alquinilo sustituido incluye grupos alquinilo en los que un átomo que no es de carbono o que no es de hidrógeno está unido a un carbono con triple enlace a otro carbono y aquellos en los que un átomo que no es de carbono o que no es de hidrógeno está unido a un carbono que no participa en un triple enlace de carbono.
- Como se usa en la presente descripción, el término "aralquilo no sustituido" se refiere a grupos alquilo no sustituidos como se definió anteriormente en los que un enlace de hidrógeno o carbono del grupo alquilo no sustituido se reemplaza con un enlace a un grupo arilo como se definió anteriormente. Por ejemplo, metilo ($-CH_3$) es un grupo alquilo no sustituido. Si un átomo de hidrógeno del grupo metilo se reemplaza por un enlace a un grupo fenilo, tal como si el carbono del metilo estuviera unido a un carbono del benceno, entonces el compuesto es un grupo aralquilo no sustituido, es decir, un grupo bencilo. Por lo tanto, el término incluye grupos tales como bencilo, difenilmetilo y 1-feniletil($-CH(C_6H_5)(CH_3)$), entre otros.
- Como se usa en la presente descripción, el término "aralquilo sustituido" tiene el mismo significado con respecto a los grupos aralquilo no sustituidos que tenían los grupos arilo sustituidos con respecto a los grupos arilo no sustituidos. Sin embargo, un grupo aralquilo sustituido también incluye grupos en los que un enlace de carbono o hidrógeno de la parte alquilo del grupo se reemplaza por un enlace a un átomo que no es de carbono o de hidrógeno. Los ejemplos de grupos aralquilo sustituidos incluyen $-CH_2C(=O)(C_6H_5)$, y $-CH_2(2\text{-methylfenilo})$, entre otros.
- Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclico no sustituido" se refiere a compuestos de anillo tanto aromáticos como no aromáticos, que incluyen compuestos de anillo monocíclicos, bicíclicos y policíclicos tales como quinuclidilo, que contienen 3 o más miembros del anillo de los cuales uno o más es un heteroátomo tal como N, O. y S. Los ejemplos de grupos heterociclico incluyen: anillos insaturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno tales como pirrolilo, pirrolinilo, imidazolilo, pirazolilo, piridinilo, dihidropiridinilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, triazolilo, por ejemplo, 4H-1,2,4-triazolilo, 1H-1,2,3-triazolilo, 2H-1,2,3-triazolilo, etc., tetrazolilo, por ejemplo, 1H-tetrazolilo, 2H-tetrazolilo, etc.); anillos saturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno tales como pirrolidinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo; grupos heterocíclicos insaturados condensados que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno tales como indolilo, isoindolilo, indolinilo, indolizinilo, bencimidazolilo, quinolilo, isoquinolilo, indazolilo, benzotriazolilo; anillos insaturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno tales como oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, por ejemplo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, etc.; anillos saturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno tales como morfolinilo; grupos heterocíclicos condensados insaturados que contienen de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, por ejemplo, benzoxazolilo, benzoxadiazolilo, benzoxazinilo, por ejemplo 2H-1,4-benzoxazinilo, etc.); anillos insaturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 3 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno tales como tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, por ejemplo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, etc.; anillos saturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 2 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno tales como tiazolodinilo; anillos saturados y insaturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 2 átomos de azufre tales como tienilo, dihidroditinilo, dihidroditionilo, tetrahidrotiofeno, tetrahidrotiopirano; anillos heterocíclicos condensados insaturados que contienen de 1 a 2 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como benzotiazolilo, benzotiadiiazolilo, benzotiazinilo (por ejemplo, 2H-1,4-benzotiazinilo, etc.), dihidrobenzotiazinilo, por ejemplo, 2H-3,4-dihidrobenzotiazinilo, etc., anillos insaturados de 3 a 8 miembros que contienen átomos de oxígeno tales como furilo; anillos heterocíclicos condensados insaturados que contienen de 1 a 2 átomos de oxígeno tales como benzodioxolilo, por ejemplo, 1,3-benzodioxolilo, etc.; anillos insaturados de 3 a 8 miembros que contienen un átomo de oxígeno y de 1 a 2 átomos de azufre tales como dihidrooxatiinilo; anillos saturados de 3 a 8 miembros que contienen de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 2 átomos de azufre tales como 1,4-oxatiano; anillos condensados insaturados que contienen de 1 a 2 átomos de azufre tales como benzotienilo, benzodiitnilo; y anillos heterocíclicos condensados insaturados que contienen un átomo de oxígeno y de 1 a 2 átomos de oxígeno tales como benzoxatiinilo. Los grupos heterociclico también incluyen los descritos anteriormente en los que uno o más átomos de S en el anillo tienen un doble enlace con uno o dos átomos de oxígeno (sulfóxidos y sulfonas). Por ejemplo, los grupos heterociclico incluyen óxido de tetrahidrotiofeno y 1,1-dióxido de tetrahidrotiofeno. Los grupos heterociclico preferidos contienen 5 o 6 miembros del anillo. Los grupos heterociclico más preferidos incluyen morfolina, piperazina, piperidina, pirrolidina, imidazol, pirazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, tetrazol, tiófeno, tiomorfolina,

tiomorfolina en los que el átomo S de la tiomorfolina está unido a uno o más átomos de O, pirrol, homopiperazina, oxazolidin-2-ona, pirrolidin-2-ona, oxazol, quinuclidina, tiazol, isoxazol, furano y tetrahidrofurano.

- 5 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclico sustituido" se refiere a un grupo heterociclico no sustituido como se definió anteriormente en el que uno o más de los miembros del anillo están unidos a un átomo que no es de hidrógeno tal como se describió anteriormente con respecto a grupos alquilo sustituidos y grupos arilo sustituidos. Los ejemplos incluyen grupos 2-metilbencimidazolilo, 5-metilbencimidazolilo, 5-clorobenzotiazolilo, N-alquilpiperazinilo tales como 1-metilpiperazinilo, N-óxido de piperazina, N-óxidos de N-alquilpiperazina, 2-fenoxitofeno y 2-cloropiridinilo entre otros. Además, los grupos heterociclico sustituidos también incluyen grupos heterociclico en los que el enlace al átomo que no es de hidrógeno es un enlace a un átomo de carbono que es parte de un grupo arilo sustituido y no sustituido, aralquilo sustituido y no sustituido, o heterociclico no sustituido. Los ejemplos incluyen 1-bencílpiperidinilo, 3-fenitiomorfolinilo, 3-(pirrolidin-1-il)-pirrolidinilo y 4-(piperidin-1-il)-piperidinilo. Grupos tales como grupos de piperazina N-alquil sustituidos tales como N-metil piperazina, grupos morfolino sustituidos y grupos N-óxido de piperazina tales como N-óxido de piperazina y N-óxidos de N-alquil piperazina son ejemplos de algunos grupos heterociclico sustituidos. Grupos tales como grupos piperazina sustituidos tales como grupos piperazina sustituidos con N-alquilo tales como N-metilpiperazina, grupos morfolino sustituidos y grupos N-óxido son ejemplos de algunos grupos heterociclico sustituidos que son adecuados para diversos grupos "R".
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- Como se usa en la presente descripción, el término "heterocicliclalquilo no sustituido" se refiere a grupos alquilo no sustituidos como se definió anteriormente en los que un enlace de hidrógeno o carbono del grupo alquilo no sustituido se reemplaza con un enlace a un grupo heterociclico como se definió anteriormente. Por ejemplo, metilo (-CH₃) es un grupo alquilo no sustituido. Si un átomo de hidrógeno del grupo metilo se reemplaza por un enlace a un grupo heterociclico, tal como si el carbono del metilo estuviera unido al carbono 2 de la piridina (uno de los carbonos unidos al N de la piridina) o a los carbonos 3 o 4 de la piridina, entonces el compuesto es un grupo heterocicliclalquilo no sustituido.
- Como se usa en la presente descripción, el término "heterocicliclalquilo sustituido" tiene el mismo significado con respecto a los grupos heterocicliclalquilo no sustituidos que tenían los grupos aralquilo sustituidos con respecto a los grupos aralquilo no sustituidos. Sin embargo, un grupo heterocicliclalquilo sustituido también incluye grupos en los que un átomo que no es de hidrógeno está unido a un heteroátomo en el grupo heterociclico del grupo heterocicliclalquilo tal como un átomo de nitrógeno en el anillo de piperidina de un grupo piperidinalquilo. Además, un grupo heterocicliclalquilo sustituido también incluye grupos en los que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno de la parte alquilo del grupo se reemplaza por un enlace a un grupo arilo sustituido y no sustituido o aralquilo sustituido y no sustituido.
- Como se usa en la presente descripción, el término "alquilaminoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente. Por ejemplo, metilo (-CH₃) es un grupo alquilo no sustituido. Si un átomo de hidrógeno del grupo metilo se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a un átomo de hidrógeno y un grupo etilo, entonces el compuesto resultante es -CH₂-N(H)(CH₂)₂CH₃ que es un grupo alquilaminoalquilo no sustituido.
- Como se usa en la presente descripción, el término "alquilaminoalquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilmidoalquilo no sustituido como se definió anteriormente excepto donde uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno en uno o ambos grupos alquilo se reemplaza por un enlace a un átomo que no es carbono o un átomo que no es hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a los grupos alquilo sustituidos, excepto que el enlace al átomo de nitrógeno en todos los grupos alquilaminoalquilo no califica por sí solo a todos los grupos alquilaminoalquilo como sustituidos.
- Como se usa en la presente descripción, el término "dialquilaminoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a otros dos grupos alquilo no sustituidos como se definió anteriormente.
- Como se usa en la presente descripción, el término "dialquilaminoalquilo sustituido" se refiere a un grupo dialquilaminoalquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que uno o más enlaces a un átomo de carbono o hidrógeno en uno o más de los grupos alquilo se reemplaza por un enlace a un átomo que no es carbono y no es hidrógeno como se describió con respecto a los grupos alquilo sustituidos. El enlace al átomo de nitrógeno en todos los grupos dialquilaminoalquilo no califica por sí solo a todos los grupos dialquilaminoalquilo como sustituidos.
- Como se usa en la presente descripción, el término "alcoxi no sustituido" se refiere a un grupo hidroxilo (-OH) en el que el enlace al átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de carbono de un grupo alquilo no sustituido de cualquier otra manera como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "alcoxi sustituido" se refiere a un grupo hidroxilo (-OH) en el que el enlace al átomo de hidrógeno se

reemplaza por un enlace a un átomo de carbono de un grupo alquilo sustituido de cualquier otra manera como se definió anteriormente.

- 5 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclico no sustituido" se refiere a un grupo hidroxilo (-OH) en el que el enlace al átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo del anillo de un grupo heterociclico no sustituido de cualquier otra manera como se definió anteriormente. Como se utiliza en la presente descripción, el término "heterociclico sustituido" se refiere a un grupo hidroxilo (-OH) en el que el enlace al átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo del anillo de un grupo heterociclico sustituido de cualquier otra manera como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno se reemplaza por un enlace de oxígeno, que está unido a un grupo heterociclico no sustituido.
- 10 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalquilo sustituido" se refiere a un grupo heterociclicoalquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace a un grupo de carbono o hidrógeno del grupo alquilo del grupo heterociclicoalquilo está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a grupos alquilo sustituidos o en el que el grupo heterociclico del grupo heterociclicoalquilo es un grupo heterociclico sustituido como se definió anteriormente.
- 15 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalcoxi no sustituido" se refiere a un grupo heterociclicoalcoxi no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental, y en el que otro carbono o el enlace de hidrógeno del grupo alquilo no sustituido está unido a un grupo heterociclico no sustituido como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalcoxi sustituido" se refiere a un grupo heterociclicoalcoxi no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace a un grupo de carbono o hidrógeno del grupo alquilo del grupo heterociclicoalcoxi está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a grupos alquilo sustituidos o en los que el grupo heterociclico del grupo heterociclicoalcoxi es un grupo heterociclico sustituido como se definió anteriormente. Además, un grupo heterociclicoalcoxi sustituido también incluye grupos en los que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno con el resto alquilo del grupo puede estar sustituido con uno o más heterociclos sustituidos y no sustituidos adicionales.
- 20 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalcoxi no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental, y en el que otro carbono o el enlace de hidrógeno del grupo alquilo no sustituido está unido a un grupo heterociclico no sustituido como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoalcoxi sustituido" se refiere a un grupo heterociclicoalcoxi no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace a un grupo de carbono o hidrógeno del grupo alquilo del grupo heterociclicoalcoxi está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a grupos alquilo sustituidos o en los que el grupo heterociclico del grupo heterociclicoalcoxi es un grupo heterociclico sustituido como se definió anteriormente. Además, un grupo heterociclicoalcoxi sustituido también incluye grupos en los que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno con el resto alquilo del grupo puede estar sustituido con uno o más heterociclos sustituidos y no sustituidos adicionales.
- 25 Como se usa en la presente descripción, el término "arilaminoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o un enlace de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a al menos un grupo arilo no sustituido como se definió anteriormente.
- 30 Como se usa en la presente descripción, el término "arilaminoalquilo sustituido" se refiere a un grupo arilaminoalquilo no sustituido como se definió anteriormente excepto donde el grupo alquilo del grupo arilaminoalquilo es un grupo alquilo sustituido como se definió anteriormente o el grupo arilo del grupo arilaminoalquilo es un grupo arilo sustituido excepto que los enlaces al átomo de nitrógeno en todos los grupos arilaminoalquilo no califican por sí solos a todos los grupos arilaminoalquilo como sustituidos. Sin embargo, los grupos arilaminoalquilo sustituidos incluyen grupos en los que el enlace de hidrógeno al átomo de nitrógeno del grupo se reemplaza por un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno.
- 35 Como se usa en la presente descripción, el término "arilaminoalquilo sustituido" se refiere a un grupo arilaminoalquilo no sustituido como se definió anteriormente excepto donde el grupo alquilo del grupo arilaminoalquilo es un grupo alquilo sustituido como se definió anteriormente o el grupo arilo del grupo arilaminoalquilo es un grupo arilo sustituido excepto que los enlaces al átomo de nitrógeno en todos los grupos arilaminoalquilo no califican por sí solos a todos los grupos arilaminoalquilo como sustituidos. Sin embargo, los grupos arilaminoalquilo sustituidos incluyen grupos en los que el enlace de hidrógeno al átomo de nitrógeno del grupo se reemplaza por un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno.
- 40 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoaminoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a al menos un grupo heterociclico no sustituido como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoaminoalquilo sustituido" se refiere a grupos heterociclicoaminoalquilo no sustituidos como se definió anteriormente en los que el grupo heterociclico es un grupo heterociclico sustituido como se definió anteriormente y/o el grupo alquilo es un grupo alquilo sustituido como se definió anteriormente. Los enlaces al átomo de nitrógeno en todos los grupos heterociclicoaminoalquilo no califican por sí solos a todos los grupos heterociclicoaminoalquilo como sustituidos.
- 45 Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoaminoalquilo no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de nitrógeno que está unido a al menos un grupo heterociclico no sustituido como se definió anteriormente. Como se usa en la presente descripción, el término "heterociclicoaminoalquilo sustituido" se refiere a grupos heterociclicoaminoalquilo no sustituidos como se definió anteriormente en los que el grupo heterociclico es un grupo heterociclico sustituido como se definió anteriormente y/o el grupo alquilo es un grupo alquilo sustituido como se definió anteriormente. Los enlaces al átomo de nitrógeno en todos los grupos heterociclicoaminoalquilo no califican por sí solos a todos los grupos heterociclicoaminoalquilo como sustituidos.
- 50 Como se usa en la presente descripción, el término "alquilaminoalcoxi no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental y en el que otro enlace de carbono o hidrógeno del grupo alquilo no sustituido está unido a un átomo de nitrógeno que está unido a un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente.
- 55 Como se usa en la presente descripción, el término "alquilaminoalcoxi sustituido" se refiere a grupos alquilaminoalcoxi no sustituidos como se definió anteriormente en los que un enlace a un átomo de carbono o hidrógeno del grupo alquilo unido al átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental se reemplaza por uno o más enlaces a átomos que no son de carbono y no son de hidrógeno como se analizó anteriormente con respecto a grupos alquilo sustituidos y/o si el enlace de hidrógeno al grupo amino está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno y/o si el grupo alquilo unido al nitrógeno de la amina está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a los grupos alquilo sustituidos. La

presencia de funcionalidad amina y alcoxi en todos los grupos alquilaminoalcoxi no califica por sí sola a todos estos grupos como grupos alquilaminoalcoxi sustituidos.

- 5 Como se usa en la presente descripción, el término "dialquilaminoalcoxi no sustituido" se refiere a un grupo alquilo no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace de carbono o hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental y en el que otro enlace de carbono o hidrógeno del grupo alquilo no sustituido está unido a un átomo de nitrógeno que está unido a otros dos grupos alquilo no sustituidos similares o diferentes como se definió anteriormente.
- 10 Como se usa en la presente descripción, el término "dialquilaminoalcoxi sustituido" se refiere a un grupo dialquilaminoalcoxi no sustituido como se definió anteriormente en el que un enlace a un átomo de carbono o hidrógeno del grupo alquilo unido al átomo de oxígeno que está unido al compuesto parental se reemplaza por uno o más enlaces a átomos que no son de carbono y no son de hidrógeno como se analizó anteriormente con respecto a los grupos alquilo sustituidos y/o si uno o más de los grupos alquilo unidos al nitrógeno de la amina está unido a un átomo que no es de carbono y no es de hidrógeno como se describió anteriormente con respecto a los grupos alquilo sustituidos. La presencia de funcionalidad amina y alcoxi en todos los grupos dialquilaminoalcoxi no califica por sí sola a todos estos grupos como grupos dialquilaminoalcoxi sustituidos.
- 15 Como se usa en la presente descripción, el término "protegido" con respecto a grupos hidroxilo, grupos amina y grupos sulfhidrilo se refiere a formas de estas funcionalidades que están protegidas de una reacción indeseable con un grupo protector conocido por los expertos en la técnica, tales como los expuestos en el documento Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, (3^a edición, 1999), que se pueden añadir o eliminar mediante el uso de los procedimientos allí establecidos. Los ejemplos de grupos hidroxilo protegidos incluyen éteres silílicos tales como los obtenidos por reacción de un grupo hidroxilo con un reactivo tal como t-butildimetilclorosilano, trimetilclorosilano, triisopropilclorosilano, trietilclorosilano; éteres metílicos y etílicos sustituidos tales como, por ejemplo, éter metoximetílico, éter metiltiometílico, éter bencilogoximetílico, éter t-butoximetílico, éter 2-metoxietoximetílico, éteres tetrahidropiranílicos, éter 1-etoxtiétlico, éter alílico, éter bencílico; ésteres tales como formiato de benzoílo, formiato, acetato, tricloroacetato y trifluoroacetato. Los ejemplos de grupos amina protegidos incluyen amidas tales como formamida, acetamida, trifluoroacetamida y benzamida; imidas, tales como ftalamida y ditiosuccinimida; y otros. Los ejemplos de grupos sulfhidrilo protegidos incluyen tioéteres tales como S-benciltioéter y S-4-picoliltioéter; derivados de S-metilo sustituidos tales como hemitio, ditio y aminotioacetales, entre otros.

Información general

- 35 Se ha encontrado que diversos compuestos son útiles en el tratamiento de ciertas enfermedades tales como, por ejemplo, el cáncer. Por ejemplo, Gleevec® (mesilato de imatinib o "imatinib") es un compuesto que ha demostrado eficacia en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (CML) y los tumores del estroma gastrointestinal (GIST). Otros fármacos experimentales incluyen sorafenib y PNU-166196 para el tratamiento respectivo del carcinoma de células renales y la leucemia. Aunque se han logrado avances importantes en el desarrollo de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de ciertos cánceres; se requieren nuevos compuestos, composiciones, métodos de tratamiento y sistemas modelo para desarrollar fármacos para prevenir y/o tratar el cáncer y otras enfermedades, por ejemplo, enfermedades vasculares pulmonares tales como la hipertensión arterial pulmonar (PAH). En particular, los receptores tirosina cinasas del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) son una diana terapéutica atractiva para la PAH. La vía de señalización del PDGF se activa en la PAH idiopática humana (iPAH) y en modelos animales de la enfermedad. Por ejemplo, la expresión de ARNm de PDGFA, PDGFB, PDGFR α y PDGFR β aumenta en arterias pulmonares pequeñas de pacientes con iPAH en comparación con sujetos de control, y el análisis de transferencia Western muestra un aumento significativo en la expresión de proteínas PDGFR β en los pulmones con PAH.
- 50 La migración de PASMC es inhibida por imatinib, un inhibidor de PDGFR α . El imatinib también disminuye la RVSP y mejora la supervivencia en el modelo MCT de PAH en ratas. En varios informes de casos de pacientes con PAH refractaria, se ha observado una respuesta favorable al imatinib. Ver documento, Ghofrani y otros, "Imatinib in pulmonary arterial hypertension patients with inadequate response to established therapy." Am J Respir Crit Care Med. Vol. 182:1171-7 (2010). El ensayo IMPRES, que examinó el efecto del imatinib en pacientes con PAH grave, mostró una mejora en la distancia caminada de seis minutos y en la hemodinámica cardiopulmonar. Sin embargo, el imatinib administrado por vía oral puede estar asociado con efectos secundarios sistémicos que incluyen malestar gastrointestinal y supresión de la médula ósea. Ver documento Paniagua y otros, "Imatinib for the treatment of rheumatic diseases." Nat Clin Pract Rheumatol; Vol 3:190-1 (2007). Para mejorar la ventana terapéutica, es decir, aumentar la eficacia y disminuir los efectos secundarios sistémicos, los presentes inventores emplearon el suministro por inhalación de inhibidores de cinasas para la PAH.

- 65 Además, imatinib se desarrolló mediante el uso de un sistema modelo MCT murino *in vivo*, que es un sistema imperfecto en lo que respecta a la evaluación preclínica de la eficacia de los candidatos a fármacos, al menos porque no es confiable con respecto a la expresión de ciertos fenotipos de enfermedades humanas, por ejemplo, el desarrollo de lesiones neointimales y/o plexiformes asociadas con PAH. Documento Cool y otros, "Pathogenesis and

evolution of plexiform lesions in pulmonary hypertension associated with scleroderma and human immunodeficiency virus infection." Hum Pathol. 28:434-442 (1997). Por lo tanto, examinar los efectos de los inhibidores de cinasas en modelos más agresivos que presentan fenotipos de enfermedades humanas es esencial para reflejar con mayor precisión la patología de la enfermedad humana y, en consecuencia, el desarrollo de la próxima generación de compuestos y composiciones para tratar efectivamente las enfermedades humanas.

Los presentes inventores han empleado tal modelo, mientras comparaban adicionalmente los presentes compuestos y terapias con imatinib. Como se detalla más abajo, los presentes inventores realizaron estudios de eficacia mediante el uso de un sistema modelo de monocrotalina (MCT) más neumonectomía (PN) murino (MCT+PN). Este modelo imparte lesiones neointimales y/o plexiformes características de enfermedades humanas, por ejemplo, PAH. Con este fin, por ejemplo, la firma patológica de la PAH consiste en lesiones concéntricas y plexiformes en pequeñas arteriolas pulmonares precapilares. Ver documentos, Cool y otros (1997); y Tudor y otros, "Plexiform lesion in severe pulmonary hypertension: association with glomeruloid lesion." Am J Pathol 159:382-383 (2001). Las lesiones concéntricas surgen de la proliferación de células neointimales, que ocultan el lumen del vaso. Se ha informado que estas lesiones neointimales obstrutivas concéntricas están compuestas de miofibroblastos y/o células endoteliales. Ver, por ejemplo, documento Yi y otros, Am J Respir Crit Care Med 162:1577-86 (2000).

Además, en la PAH plexogénica se han encontrado infiltrados perivasculares que consisten de células T, células B y macrófagos. Ver documento, Sakagami, "In vivo, in vitro and ex vivo models to assess pulmonary absorption and disposition of inhaled therapeutics for systemic delivery." Adv Drug Deliv Rev 58:1030-1060 (2006). Además, las lesiones plexiformes se caracterizan por canales vasculares desorganizados que se tiñen para detectar marcadores de células endoteliales, y tales lesiones en muestras de pulmón de pacientes con PAH idiopática y/o primaria consisten en una expansión monoclonal de células endoteliales. Documento Lee y otros, "Monoclonal endothelial cell proliferation is present in primary but not secondary pulmonary hypertension." J Clin Invest 101:927-934 (1998). Como tal, la PAH de este tipo es esencialmente un "cáncer" de las células endoteliales arteriales pulmonares (ver id.), al menos porque en las etapas iniciales o tempranas de la enfermedad, una pérdida apoptótica aguda de células endoteliales normales puede resultar en la aparición y expansión clonal de células endoteliales resistentes a la apoptosis. Lee y otros (1998). El proceso neoplásico asociado con la PAH proporciona no solo el tratamiento de la PAH con inhibidores de cinasas, sino también el desarrollo de nuevos compuestos, composiciones y métodos, a través de determinaciones del modelo MCT+PN, con eficacia y potencia superiores y un espectro de inhibición más amplio en comparación con los inhibidores de cinasas generados previamente mediante el uso de sistemas modelo inferiores, que pueden poseer una selectividad estrecha para la inhibición de RTK, para el tratamiento de enfermedades neoplásicas. El modelado de homología fármaco-cinasa garantiza que tales inhibidores, que incluyen, por ejemplo, sus derivados no selectivos e irreversibles, se dirijan a dominios de cinasas vulnerables para una eficacia óptima, como se describe en más detalle más abajo.

Síntesis de compuestos

En un aspecto, la presente descripción proporciona la síntesis de compuestos de Estructura I, que se sintetizan fácilmente mediante el uso de los procedimientos descritos en las siguientes secciones y como se describe en el documento WO 2008/058341. Además, los compuestos de Estructura I se preparan típicamente a partir de materiales de partida, tales como, por ejemplo, dihaloheterociclo. La primera etapa es una sustitución aromática nucleofílica para generar un intermediario monoamino-monohalo. La sustitución aromática nucleofílica se lleva a cabo típicamente mediante la adición de una amina primaria o secundaria al heterociclo dialogenado en un solvente tal como etanol, isopropanol, terc-butanol, dioxano, THF, DMF, etoxietanol, tolueno o xileno. La reacción típicamente ocurre a temperatura elevada en presencia de un exceso de amina o una base no nucleofílica tal como trietilamina o diisopropiletilamina, o una base inorgánica tal como carbonato de potasio o carbonato de sodio.

Alternativamente, el sustituyente amino se puede introducir mediante una reacción de aminación catalizada por un metal de transición. Los catalizadores típicos para tales transformaciones incluyen Pd(OAc)₂/P(t-Bu)₃, Pd₂(dba)₃/BINAP y Pd(OAc)₂/BINAP. Estas reacciones se llevan a cabo típicamente en solventes tales como tolueno o dioxano, en presencia de bases tales como carbonato de cesio o terc-butóxido de sodio o potasio a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta el refluxo. Ver, por ejemplo, el documento Hartwig y Angew, Chem. Int. Ed 37, 2046 (1998). Las aminas empleadas en la primera etapa de la síntesis de estos compuestos se obtienen comercialmente o se preparan mediante el uso de métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Además, las α -alquilbencilaminas se pueden preparar mediante reducción de oximas. Los reductores típicos incluyen hidruro de litio y aluminio, gas hidrógeno en presencia de paladio sobre catalizador de carbón, Zn en presencia de ácido clorhídrico, borohidruro de sodio en presencia de un ácido de Lewis tal como TiCb, ZrCU, NiCl₂ y MoOs, o borohidruro de sodio con resina de intercambio iónico Amberlyst H1 5 y LiCl. Las α -alquilbencilaminas también se pueden preparar mediante aminación reductora de las cetonas correspondientes. Un método clásico para tal transformación es la reacción de Leuckart-Wallach, aunque las condiciones catalíticas (HCO₂NH₄, [(CH₃)₅C₅RhCl₂]₂) u otros procedimientos, por ejemplo, NH₄OAc, Na(CN)BH₃ también se usan. También se pueden preparar α -alquilbencilaminas a partir de los correspondientes alcoholes α -alquilbencílicos. Tales métodos incluyen la derivatización del hidroxilo como mesilato o tosilato y el desplazamiento con un nucleófilo de nitrógeno, tal como ftalimida o azida, que se convierte en la amina primaria mediante el uso de métodos sintéticos convencionales; o desplazamiento del hidroxilo con un nucleófilo de nitrógeno adecuado en condiciones similares a las de Mitsunobu.

Los alcoholes α -alquilbencílicos se pueden preparar mediante la reducción de las cetonas correspondientes con un agente reductor tal como el borohidruro de sodio en un solvente tal como metanol. Alternativamente, los alcoholes α -alquilbencílicos se pueden obtener mediante la adición de una especie de alquilmetal (tal como un reactivo de Grignard) a un derivado de benzaldehído, que típicamente se realiza a temperatura ambiente o inferior en solventes tales como tetrahidrofuran. Se pueden preparar α -alquilbencilaminas de alta pureza óptica a partir de alcoholes α -alquilbencílicos quirales mediante el uso de los métodos descritos anteriormente. Los alcoholes quirales α -alquilbencílicos se pueden obtener mediante reducción quiral de las cetonas correspondientes.

El intermediario monoamino-monohalo formado a partir del dihaloheterociclo y la amina descrita anteriormente, se puede funcionalizar adicionalmente. Por ejemplo, cuando el sustituyente amina lleva un grupo funcional adicional, este grupo funcional se puede derivatizar o funcionalizar mediante el uso de métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un grupo amino primario libre se podría funcionalizar adicionalmente a una funcionalidad amida, sulfonamida o urea, o se podría alquilar para generar un derivado de amina secundaria o terciaria. Los métodos preferibles para la formación de una amida incluyen acoplar la amina con un ácido carboxílico mediante el uso de reactivos de acoplamiento tales como cicloclohexilcarbodiimida, 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etylcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbonildiimidazol en solventes tales como diclorometano, tetrahidrofuran o 1,4-dioxano. Alternativamente, el componente ácido se puede activar mediante conversión a un cloruro de ácido (mediante el uso cloruro de cloruro de tionilo, cloruro de oxalilo, carbonato de bis(triclorometilo) o cloruro cianúrico) o a especies de anhidrido mixto (mediante el uso, por ejemplo, de cloroformiato de t-butilo o cloroformiato de isopropilo) o a intermediarios de éster activo (tales como ésteres de N-hidroxisuccinimidilo, pentafluorofenilo o p-nitrofenilo) antes de la reacción de la amina.

El intermediario monoamino-monocloro se puede hacer reaccionar luego en una reacción de acoplamiento cruzado mediada por paladio con una pareja de acoplamiento adecuadamente funcionalizada para reemplazar el átomo de halógeno con un resto alternativo. Las parejas de acoplamiento típicas son ácidos o ésteres organoborónicos. Ver, por ejemplo, los documentos, Miyaura y Suzuki, Chem Rev. 952457 (1995); Stille, Chem., Int. Ed. Engl 25, 508 (1986); Kumada y otros, Org. Synth. Coll. Vol.6, 407 (1998); y: Negishi, J. Organomet. Chem. 653, 34 (2002) para acoplamiento de Suzuki, organostananos, acoplamiento de Stille, reactivos de Grignard, acoplamiento de Kumada, especies de organozinc y acoplamiento de Negishi, respectivamente. El acoplamiento de Suzuki es el método de acoplamiento preferido y típicamente se realiza en un solvente tal como DME, THF, DMF, etanol, propanol, tolueno o 1,4-dioxano en presencia de una base tal como carbonato de potasio, hidróxido de litio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio, fluoruro de potasio o fosfato de potasio. La reacción se puede llevar a cabo a temperaturas elevadas y el catalizador de paladio empleado se puede seleccionar de $Pd(PPh_3)_4$, $Pd(OAc)_2$, $[PdCl_2(dppf)]$, $Pd_2(dbu)_3/P(t-Bu)_3$.

El intermediario monoamino-monocloro también se puede someter a una segunda reacción de sustitución aromática nucleofílica mediante el uso de condiciones similares a las descritas anteriormente. Los expertos en la técnica apreciarán que el orden de las reacciones descritas para las síntesis anteriores se puede cambiar en ciertas circunstancias y que es posible que sea necesario derivatizar ciertas funcionalidades, es decir, protegerlas, en ciertos casos para que las reacciones descritas anteriormente se desarrollen con un rendimiento y eficiencia razonables. Los tipos de funcionalidad protectora son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los productos formados a partir de las secuencias de reacción descritas anteriormente se pueden derivatizar adicionalmente mediante el uso de técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica. El grupo saliente puede ser cualquier tipo conocido adecuado, tal como los descritos en el documento March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure." 4ta edición. págs. 352-7, John Wiley & Sons, Nueva York (1992). En algunas modalidades, el grupo saliente es un halógeno, por ejemplo, cloro.

Cinasas

Las proteínas cinasas son una familia de enzimas que catalizan la fosforilación de residuos específicos en proteínas. Tales enzimas se clasifican generalmente en tres grupos, las que fosforilan preferentemente residuos de serina y/o treonina, las que fosforilan preferentemente residuos de tirosina y las que fosforilan tanto residuos de tirosina como de Ser/Thr. Por lo tanto, las proteínas cinasas son elementos clave en las vías de transducción de señales responsables de transducir señales extracelulares, que incluyen la acción de las citocinas en sus receptores, a los núcleos, al desencadenar diversos eventos biológicos. Las numerosas funciones de las proteínas cinasas en la fisiología celular normal incluyen el control del ciclo celular, que incluyen la proliferación, diferenciación, metabolismo, apoptosis, movilidad celular, mitogénesis, transcripción, traducción y otros procesos de señalización.

El receptor cinasa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR) es un tipo de RTK. La secuencia de PDGFR se puede encontrar en GenBank, número de acceso NM-002609 (ARNm) y NP-002600 (proteína) y ha sido descrita, al menos, en los documentos Matsui, y otros, "Isolation of a novel receptor cDNA establishes the existence of two PDGF receptor genes" Science 243(4892):800-804 (1989); Claesson-Welsh, L. y otros "cDNA cloning and expression of a human platelet-derived growth factor (PDGF) receptor specific for B-chain-containing PDGF molecules" Mol. Cell. Biol. 8(8):3476-3486 (1988); y Gronwald, y otros PNAS. 85(10):3435-3439 (1988).

- Además, el ligando de unión afín del PDGFR, PDGF, es un fuerte factor mitogénico para las células de origen mesenquimatoso tales como los fibroblastos, las células del músculo liso y las células gliales. PDGF es un heterodímero proteico de 32 kDa normalmente compuesto por dos cadenas polipeptídicas, A y B, unidas por enlaces disulfuro. Además del heterodímero PDGF AB, existen dos formas homodiméricas de PDGF (AA y BB). Durante la coagulación sanguínea y la adhesión plaquetaria, el PDGF se libera de los gránulos en los sitios de los vasos sanguíneos lesionados, lo que sugiere que el PDGF puede desempeñar un papel en la reparación de los vasos sanguíneos. El PDGF puede estimular la migración de las células del músculo liso arterial desde la capa medial a la íntima de la arteria, donde las células musculares pueden proliferar. La proliferación celular inducida por todas las isoformas de PDGF está mediada por la unión del ligando al receptor del PDGF. El receptor del PDGF pertenece a la familia de tirosinas cinasas de clase III y consiste de dos subtipos de receptores, denominados tipo A (o tipo alfa) y tipo B (o tipo beta), como se detalló anteriormente. Otros miembros de la familia de receptores del PDGF incluyen CSF-IR, cKIT y FLT3. Las dos isoformas del receptor del PDGF se pueden distinguir por sus especificidades de unión al ligando marcadamente diferentes. El receptor PDGF β se une sólo a la cadena B (isoformas BB y AB), mientras que el receptor PDGF α se puede unir a todas las formas de PDGF (isoformas que contienen cadena A y/o B). Dada la importancia de los procesos relacionados con PDGF para la proliferación de células endoteliales y del músculo liso vascular, existe una variedad de procesos patogénicos para los que los inhibidores de la cinasa del PDGFR β son útiles, por ejemplo, para la prevención y el tratamiento de enfermedades.
- La expresión del PDGF se ha demostrado en varios tumores sólidos diferentes, desde glioblastomas hasta carcinomas de próstata. En estos diversos tipos de tumores, el papel biológico de la señalización del PDGF puede variar desde la estimulación autocrina del crecimiento de células cancerosas hasta interacciones paracrinias más sutiles que implican el estroma adyacente y la angiogénesis. Por lo tanto, la inhibición de la actividad cinasa del PDGFR con moléculas pequeñas puede interferir con el crecimiento tumoral, la angiogénesis, enfermedades con etiologías neoplásicas, enfermedades inmunológicas e inflamatorias, enfermedades hiperproliferativas que incluyen cáncer y enfermedades que implican neoangiogénesis, enfermedades renales y del riñón, enfermedades de remodelación ósea, enfermedades metabólicas, enfermedades vasculares y enfermedades pulmonares tales como, por ejemplo, PAH. Otras enfermedades mediadas por PDGF, y que por lo tanto implican a sus receptores afines, incluyen, por ejemplo, reestenosis, que incluyen reestenosis coronaria después de angioplastia, aterectomía u otros métodos invasivos de eliminación de placa, y reestenosis de la arteria renal o periférica después de los mismos procedimientos; fenómenos proliferativos vasculares y fibrosis asociados con otras formas de lesión aguda tales como fibrosis pulmonar asociada con el síndrome de dificultad respiratoria del adulto, fibrosis renal asociada con nefritis, estenosis coronaria asociada con la enfermedad de Kawasaki y estrechamientos vasculares asociados con otras arteritides tales como la enfermedad de Takayasha; prevención de estrechamientos en injertos venosos; prevención de estrechamientos debidos a la migración y proliferación aceleradas de células del músculo liso en órganos trasplantados, y otros procesos fibróticos, tales como esclerodermia y miofibrosis e inhibición de la proliferación de células tumorales.
- c-Kit es otro receptor tirosina cinasa que pertenece a la familia de receptores del PDGF y normalmente se expresa en progenitores hematopoyéticos, mastocitos y células germinales. La expresión de c-kit se ha implicado en varios cánceres, que incluyen la leucemia de mastocitos, tumores de células germinales, carcinoma de pulmón de células pequeñas, GIST, leucemia mielógena aguda (AML), neuroblastoma, melanoma, carcinoma de ovario y carcinoma de mama. Documento Smolich y otros, Blood, 97(5) 1413-21.
- Las proteínas cinasas 1 y 2 reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) son miembros de la superfamilia de proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAP) que pueden mediar en la proliferación celular y la apoptosis. La cascada de señalización Ras-Raf-MEK-ERK que controla la proliferación celular se ha estudiado bien, pero los mecanismos implicados en la muerte celular mediada por ERK1/2 se desconocen en gran medida. ERK1/2 se traslada al núcleo, pero también puede permanecer en el citosol. La retención citosólica de ERK1/2 niega el acceso a los sustratos del factor de transcripción que son responsables de la respuesta mitogénica. Además, ERK1/2 citosólica, además de inhibir la supervivencia y las señales proliferativas en el núcleo, potencia la actividad catalítica de algunas proteínas proapoptóticas tales como la DAP cinasa en el citoplasma. Los estudios que definen con más detalle la función de ERK1/2 citosólico y sus sustratos citosólicos que potencian la muerte celular serán esenciales para aprovechar esta vía para desarrollar tratamientos efectivos para el cáncer y las enfermedades inflamatorias crónicas.
- STAT3 es un miembro de la familia de proteínas STAT, cuya función típica es en respuesta a citocinas y factores de crecimiento. Los miembros de la familia STAT son fosforilados por las cinasas asociadas al receptor y luego forman homo o heterodímeros que se trasladan al núcleo celular donde actúan como activadores de la transcripción. STAT3 se activa mediante fosforilación en respuesta a diversas citocinas y factores de crecimiento, que incluyen IFN, EGF, IL5, IL6, HGF, LIF y BMP2. Esta proteína media la expresión de una variedad de genes en respuesta a estímulos celulares y, por lo tanto, desempeña un papel clave en muchos procesos celulares, tales como el crecimiento celular y la apoptosis. Se ha demostrado que la GTPasa pequeña Rac1 se une y regula la actividad de esta proteína, mientras que se ha demostrado que PIAS3 inhibe STAT3.
- AKT (también conocida como PKB) participa en la regulación del metabolismo, la supervivencia celular, la motilidad, la transcripción y la progresión del ciclo celular. AKT pertenece a la subfamilia AGC de la superfamilia de proteínas

cinasas, las cuales consisten de más de 500 miembros en humanos. La subfamilia AKT comprende tres isoformas de mamíferos, Akt1, Akt2 y Akt3, que son productos de genes distintos y comparten una estructura conservada que incluye tres dominios funcionales: un dominio de homología de pleckstrina (PH) N-terminal, un dominio de cinasa central y un dominio regulador C-terminal que contiene el sitio de fosforilación del motivo hidrófobo (HM) [FxxF(S/T)Y].

5 Inhibidores de cinasas

En un aspecto, la presente descripción proporciona compuestos y métodos para inhibir una cinasa, por ejemplo, una 10 tirosina cinasa, tal como una RTK, en un sujeto y/o un método para tratar una afección biológica mediada por, o asociada con, una cinasa, por ejemplo, una tirosina cinasa, tal como una RTK, en un sujeto. En algunas modalidades, la cinasa es cinasa Cdc2, AKT, c-Kit, c-ABL, ERK1/2, STAT3, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR3, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FLT-3, Fyn, Lck, Tie-2, GSK-3, Cdk2, Cdk4, MEK1, NEK-2, CHK2, CK1 ϵ , Raf, CHK1, Rsk2, FMS (CSF-IR), KDR, EphA2, EphA3, EphA8, FLT1, FLT4, HCK, PTK5, RET, SYK, DDR1, 15 DDR2 y PAR-1. Igualmente, la cinasa es una tirosina cinasa, tal como, por ejemplo, cinasa Cdc2, c-Kit, c-ABL, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR3, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FLT-3, Fyn, Lck y/o Tie-2, en algunas modalidades. Los métodos incluyen administrar al sujeto un compuesto de Estructura I, un tautómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del 20 tautómero o mezclas de los mismos.

20 Anteriormente, se ha demostrado que diversos compuestos sustituidos con indolilo inhiben una o más cinasas, como se describió en los documentos WO 01/29025, WO 01/62251, y WO 01/62252. Igualmente, recientemente se han descrito diversos compuestos de bencimidazolilo en el documento WO 01/28993. Se informa que tales compuestos 25 son capaces de inhibir, modular y/o regular la transducción de señales de tirosina cinasas tanto de tipo receptor como no receptoras. Algunos de los compuestos descritos contienen un fragmento de quinolona unido al grupo indolilo o bencimidazolilo. También se ha informado de la síntesis de 4-hidroxiquinolona y derivados de 4-hidroxiquinolina. Por ejemplo, Ucraniats y otros han descrito la síntesis de 3-(bencimidazol-2-il)-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina. Ucraniats y otros, Tet. Lett. 42, 7747-48 (1995) también han descrito la síntesis, actividad 30 anticonvulsiva y antitiroides de otras 4-hidroxiquinolonas y sus análogos tales como 1H-2-oxo-3-(2-bencimidazolil)-4-hidroxiquinolina. Documento Ukrainets y otros, Khimiya Geterotsiklichesikh Soedinii, 1, 105-108 (1993). Además, otros compuestos tales como, por ejemplo, 4-amino-5-fluoro-3-[5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-bencimidazol-2-il]quinolin-2(1H)-ona se han descrito como una bencimidazol-quinolinona biodisponible por vía oral que exhibe inhibición de los receptores tirosina cinasas que impulsan la proliferación de células endoteliales y tumorales. El efecto inhibidor se 35 demostró en nueve tirosina cinasas, FGFR1, FGFR3, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR β , c-Kit, p60src y FLT-3, como se describió en el documento WO 2005/047244. Sin embargo, este compuesto no inhibe significativamente las cinasas de la familia EGFR ni los receptores cinasas de insulina en dosis farmacéuticamente aceptables.

Además, la 4-(4-metilpiperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il)pirimidin-2-ilamino]fenil]-benzamida (imatinib), 40 como se describió en el documento US 2006/0154936, inhibe PDGFR α y β cinasas, Abl, DDR y c-KIT, como se describió en el documento US 2011/0190313. El párrafo del documento US 2011/0190313, sin embargo, indica que, aunque imatinib parecía seguro y bien tolerado durante un período de 6 meses, el parámetro de eficacia primario (6MWD) no mejoró en pacientes asignados al azar a imatinib en comparación con el placebo, a pesar de una mejora significativa en los criterios de valoración secundarios. Por lo tanto, existe una necesidad continua de compuestos 45 que inhiban cinasas, por ejemplo, tirosina cinasas, tales como RTK, al menos debido a limitaciones previas, fenotipos de enfermedades resistentes y la necesidad de una inhibición de cinasas más efectiva, por ejemplo, RTK, como se detalla más abajo. Ver el documento US 2008/0268460.

Además, las moléculas pequeñas que se informaron en el documento Frey y otros (1998) demostraron que inhibían 50 irreversiblemente el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) al interactuar covalentemente con el receptor, mientras alquilaban un residuo de cisteína en el bolsillo de unión al ATP de la molécula. En efecto, en el documento Leproult y otros, "Cysteine Mapping in Conformationally Distinct Kinase Nucleotide Binding Sites: Application to the Design of Selective Covalent Inhibitors." J. Med. Chem. 54, 1347-1355 (2011), se describe que un enfoque para diseñar inhibidores irreversibles es explotar la nucleofilicidad de un grupo tiol de cisteína presente en la 55 proteína diana mediante el análisis sistemático de los residuos de cisteína presentes en el sitio de unión de nucleótidos de las cinasas. Un enfoque de este tipo puede facilitar la inhibición irreversible incluso al tener en cuenta las diferentes conformaciones de cinasas y, por lo tanto, mejorar la dosificación y la toxicidad. Ver id.

En el documento The cysteine mapping in Leproult y otros (2011) demuestran que las cinasas son dianas 60 potenciales para los inhibidores covalentes selectivos. Se muestra un ejemplo del inhibidor de cinasa imatinib al que se le añade un grupo cloroacetamida en la posición para del anillo de benceno. Se demostró la formación de aductos inhibidores de péptidos tanto para los receptores Kit como para PDGF α . Id. Sin embargo, otros compuestos no lograron mostrar aductos covalentes similares. La cloroacetamida se muestra como un ejemplo de un electrófilo 65 que puede formar un enlace covalente con un residuo de cisteína. El término general "ojiva" se usa para referirse a una trampa electrofílica para formar un enlace covalente entre el inhibidor y la proteína cinasa diana. La cloroacetamida como electrófilo puede ser demasiado reactiva para tener utilidad clínica y puede tener toxicidad por

este motivo. Leproult y otros (2011) sugieren, sin embargo, que una posición inferior a la óptima del electrófilo podría explicar por qué no se puede formar un enlace covalente con otras ojivas menos reactivas.

- 5 La presente descripción proporciona, entre otros, un posicionamiento distinto de la ojiva en inhibidores del receptor RTK. En algunas modalidades, electrófilos distintos de los descritos por Leproult y otros (2011), se emplearon para aumentar la eficacia. Ver documentos Barf y otros (2012) y Oballa y otros, "A generally applicable method for assessing the electrophilicity and reactivity of diverse nitrile-containing compounds." BioorgMed Chem Lett 17:998-1002 (2007) (que describe electrófilos que contienen nitrilo). Además, Diller y otros, J Med Chem 46:4638-4647 (2003) informaron un modelo de homología del receptor PDGF β basado en VEGFR2 (55 % de homología).
- 10 Los inventores emplearon previamente el acoplamiento molecular con respecto a un aspecto de la presente invención mediante el uso de modelos de homología de RTK, basados en estructuras homólogas, por ejemplo, la homología de los receptores PDGF α y PDGF β con c-Kit es 59 % y 63 %, respectivamente. En algunas modalidades, la introducción de diversos electrófilos en una variedad de posiciones con respecto a un inhibidor de RTK, por ejemplo, inhibidor de PDGFR, proporcionó las bases para análisis bioquímicos adicionales. Con este fin, se puede analizar la orientación espacial de las ojivas inhibidoras, con relación a los residuos de cisteína diana, para calcular la energía libre de unión y la K_i estimada. En algunas modalidades, los compuestos con la energía libre de unión más baja y la proximidad más cercana de la ojiva a un residuo de cisteína imparten inhibidores de RTK no selectivos irreversibles.
- 15
- 20 En consecuencia, la presente descripción proporciona compuestos de Estructura 1, el enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, que interactúan covalentemente con un receptor tirosina cinasa (RTK), tal como, por ejemplo, PDGFR o c-Kit o ambos. En algunas modalidades, el PDGFR se selecciona del grupo que consiste en PDGFR- α , PDGFR- β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$ como se demuestra mediante modelado de homología.
- 25

Composiciones farmacéuticas

- 30 En un aspecto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen al menos uno de los compuestos de la Estructura 1 y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones de la presente descripción pueden contener otros agentes terapéuticos como se describió más abajo, y se pueden formular, por ejemplo, al emplear vehículos o diluyentes sólidos o líquidos convencionales, así como también aditivos farmacéuticos de un tipo adecuado para el modo de administración deseado por ejemplo, excipientes, aglutinantes, conservantes, estabilizantes, saborizantes, etc., de acuerdo con técnicas tales como las bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica.
- 35

- 40 Las composiciones farmacéuticas se formulan típicamente para que sean compatibles con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intradérmica, intraperitoneal o subcutánea), oral, por inhalación, transdérmica (tópica), intraocular, iontoporética y transmucosal. Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico. Para comodidad del paciente o del médico tratante, la formulación dosificadora se puede proporcionar en un kit que contiene todo el equipo necesario para un curso de tratamiento.
- 45
- 50

- 55 Los compuestos de la presente descripción se administran por cualquier medio adecuado, por ejemplo, por vía oral, tal como en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos o polvos; sublingual; bucal; parenteral, tal como mediante inyección o técnicas de infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra(trans)dérmica o intracisternal, por ejemplo, como soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas inyectables estériles, nasal tal como mediante aspersión para inhalación o insuflación, tópica, tal como en forma de crema o ungüento, ocular en forma de solución o suspensión, vaginal en forma de pessarios, tampones o cremas, o rectal, tal como en forma de supositorios, en formulaciones de dosificación unitaria que contienen vehículos o diluyentes no tóxicos y farmacéuticamente aceptables. Los compuestos pueden, por ejemplo, administrarse en una forma adecuada para liberación inmediata o liberación prolongada. La liberación inmediata o la liberación prolongada se puede lograr mediante el uso de composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden los presentes compuestos o, para la liberación prolongada, mediante el uso de dispositivos tales como implantes subcutáneos o bombas osmóticas.
- 60
- 65 Para la administración al tracto respiratorio, por ejemplo, por inhalación, que incluye la administración intranasal, el compuesto activo se puede administrar mediante cualquiera de los métodos y formulaciones empleados en la técnica para la administración al tracto respiratorio. Por lo tanto, el compuesto activo se puede administrar en forma

de, por ejemplo, una solución, suspensión o como un polvo seco. Los agentes de acuerdo con este aspecto de la presente descripción se pueden administrar además directamente a las vías respiratorias en forma de un aerosol. Para uso como aerosoles, los compuestos de la presente descripción en solución o suspensión se pueden empackar en un contenedor de aerosol presurizado junto con propulsores adecuados, por ejemplo, propulsores de hidrocarburo como propano, butano, o isobutano con adyuvantes convencionales. Los materiales de la presente invención se pueden administrar también en una forma no presurizada, tal como en un nebulizador o atomizador.

5 Los aerosoles para inhalación impulsados por propulsor que pueden usarse de acuerdo con la invención también pueden contener otros ingredientes tales como cosolventes, estabilizadores, surfactantes, antioxidantes, lubricantes y ajustadores del pH. Los aerosoles para inhalación impulsados por propulsor de acuerdo con la invención que pueden usarse de acuerdo con la invención se pueden administrar mediante el uso de inhaladores conocidos en la técnica, por ejemplo, inhaladores de dosis medidas. Como otra alternativa, los agentes de la presente invención se pueden administrar a las vías respiratorias en forma de una formulación de surfactante pulmonar. La formulación de surfactante pulmonar puede incluir formulaciones de surfactante pulmonar exógeno (por ejemplo, Infasurf® (Forest Laboratories), Survanta® (Ross Products) y Curosurg® (DEY, California, EE. UU.) o formulaciones de surfactante pulmonar sintético (por ejemplo, Exosurf® (GlaxoWellcome Inc.) y ALEC). Estas formulaciones de surfactantes se administran mediante instilación en las vías respiratorias (es decir, después de la intubación) o por vía intratraqueal.

10 15 Como alternativa adicional, los agentes de la presente invención se pueden administrar a las vías respiratorias en forma de un polvo inhalable. La formulación en polvo puede incluir excipientes fisiológicamente aceptables tales como monosacáridos (por ejemplo, glucosa o arabinosa), disacáridos (por ejemplo, lactosa, sacarosa y maltosa), oligo y polisacáridos (por ejemplo, dextrano), polialcoholes (por ejemplo, sorbitol, manitol, xilitol), sales (por ejemplo, cloruro de sodio, carbonato de calcio) o mezclas de estos excipientes entre sí. Preferentemente se usan mono o disacáridos, se prefiere el uso de lactosa o glucosa, particularmente, pero no exclusivamente, en forma de hidrato.

20 25 Dentro del alcance de los polvos inhalables de acuerdo con la invención, los excipientes tienen un tamaño de partícula promedio máximo de hasta 250 µm, preferentemente entre 10 y 150 µm, con la máxima preferencia entre 15 y 80 µm. A veces puede parecer apropiado añadir fracciones de excipientes más finos con un tamaño de partícula promedio de 1 a 9 µm a los excipientes mencionados anteriormente. Estos excipientes más finos también 30 35 se seleccionan del grupo de posibles excipientes enumerados anteriormente. Finalmente, para preparar los polvos inhalables de acuerdo con la invención, se añaden a la mezcla de excipientes formulaciones micronizadas, preferentemente con un tamaño de partícula promedio de 0,5 a 10 µm. Los procedimientos para producir los polvos inhalables de acuerdo con la invención mediante trituración y micronización y finalmente al mezclar los ingredientes se conocen por el estado de la técnica.

40 En formulaciones destinadas a la administración al tracto respiratorio, que incluyen formulaciones intranasales, el compuesto activo típicamente está configurado para tener un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo, aproximadamente 5 micras o menos, mediante técnicas de micronización. En algunas modalidades se emplean formulaciones de liberación sostenida del compuesto activo. El compuesto activo, en algunas modalidades, se administra mediante inhalación oral como un polvo de flujo libre mediante un inhalador.

45 50 La composición farmacéutica y el método de la presente descripción incluyen además compuestos terapéuticamente activos adicionales (segundos agentes), como se indica en la presente descripción y/o se conocen en la técnica, que típicamente se emplean para tratar una o más afecciones patológicas junto con las composiciones que comprenden compuestos de Estructura 1 de la presente descripción. La combinación de agentes terapéuticos actúa sinéricamente para efectuar el tratamiento o prevención de diversas enfermedades, trastornos y/o afecciones descritas en la presente descripción. Tales segundos agentes incluyen prostanoïdes, antagonistas de endotelina, inhibidores de cinasas citoplasmáticos, inhibidores de receptores cinasas, antagonistas del receptor de endotelina, por ejemplo, ambrisentan, bosentan y sitaxsentan, inhibidores de PDE5 (PDE-V), por ejemplo, sildenafil, tadalafil y vardenafilo, bloqueadores de canales de calcio, por ejemplo, amlodipino, felodipino, varepamilo, diltiazem y mentol, prostaciclina, treprostinal, iloprost, beraprost, óxido nítrico, oxígeno, heparina, warfarina, diuréticos, digoxina, ciclosporinas, por ejemplo, ciclosporina A, CTLA4-Ig, anticuerpos tales como ICAM-3, anti-receptor de IL-2 (Anti-Tac), anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3 (OKT-3), anti-CD4, anti-CD80, anti-CD86, agentes que bloquean la interacción entre CD40 y gp39, tales como anticuerpos específicos para CD40 y/o gp39, es decir, CD 154, proteínas de fusión construidas a partir de CD40 y gp39 (CD401g y CD8gp39), inhibidores, tales como inhibidores de translocación nuclear, de la función NF-kappa B, tales como deoxispergualina (DSG), inhibidores de la biosíntesis de colesterol tales como inhibidores de la HMG CoA reductasa (lovastatina y simvastatina), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tales como ibuprofeno, aspirina, paracetamol, desoxispergualina, inhibidores de la ciclooxygenasa tales como celecoxib, esteroides tales como prednisolona o dexametasona, compuestos de oro, beta-agonistas tales como salbutamol, LABA tales como salmeterol, antagonistas de leucotrienos tales como montelukast, agentes antiproliferativos tales como metotrexato, FK506 (tacrolimus, Prograf), micofenolato de mofetilo, fármacos citotóxicos tales como azatioprina, VP-16, etopósido, fludarabina, doxorubicina, adriamicina, amsacrina, camptotecina, citarabina, gemcitabina, fluorodesoxiuridina, melfalán y ciclofosfamida, antimetabolitos tales como metotrexato, inhibidores de la topoisomerasa tales como camptotecina, alquilantes del ADN tales como cisplatino, inhibidores de cinasas tales como sorafenib, venenos para microtúbulos tales como paclitaxel, inhibidores

55 60 65

de TNF- α tales como tenidap, anticuerpos anti-TNF o receptor de TNF soluble, hidroxiurea y rapamicina (sirolimus o Rapamune) o derivados de los mismos.

- 5 Los compuestos de la descripción también se pueden preparar como sales que son farmacéuticamente aceptables, pero se puede apreciar que sales farmacéuticamente no aceptables caen además dentro del alcance de la presente descripción, al menos en la medida en que tales sales sean útiles como intermediarios en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, fosfatos, mesilatos, bismesilatos, tosilatos, lactatos, tartratos, malatos, bis-acetatos, citratos, sales de bishidrocloruro, sales de cationes farmacéuticamente aceptables tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio; sales de adición de ácidos de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos clorhídrico, ortofosfórico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico y bromhídrico; o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, cítrico, láctico, mágico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, trihalometanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, isetiónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico, valérico y orótico. Las sales de grupos Amina también pueden comprender sales de amonio cuaternario en las que el átomo de nitrógeno amino lleva un grupo orgánico adecuado tal como un resto alquilo, alquenilo, alquinilo o aralquilo. Las sales se pueden formar por métodos convencionales, tales como por la reacción de la forma base libre del compuesto con uno o más equivalentes del ácido adecuado en un solvente o medio en el cual la sal es insoluble o en un solvente tal como agua, que se elimina al vacío o por liofilización o por intercambio de iones de una sal existente por otro anión en una resina de intercambio iónico adecuada. En algunas modalidades, la sal es una sal de sulfato, fosfato, mesilato, bismesilato, tosilato, lactato, tartrato, malato, bisacetato, citrato o bishidrocloruro.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se administran en una cantidad terapéuticamente efectiva. Tal administración imparte que un compuesto de Estructura 1 provocará una respuesta asociada, por ejemplo, con células, tejidos, fluidos, de un sujeto que busca el médico. En el tratamiento o prevención de afecciones mediadas por, o asociadas con la inhibición de cinasas, por ejemplo, inhibición de RTK, se administra un nivel de dosificación apropiado. En algunas modalidades, se administran de aproximadamente 0,01 a 500 mg/kg de peso corporal del sujeto por día en dosis únicas o múltiples. De acuerdo, los niveles de dosificación son de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg/kg por día en algunas modalidades, mientras que en otras modalidades se administra al sujeto de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/kg por día. Los niveles de dosificación adecuados incluyen, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 a 250 mg/kg por día, de aproximadamente 0,05 a 100 mg/kg por día, o de aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg por día. Dentro de este intervalo, en algunas modalidades, la dosis es de aproximadamente 0,05 a 0,5, 0,5 a 5 o 5 a 50 mg/kg por día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionan en la forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1000 mg del ingrediente activo, que incluye, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750, 800, 900 y 1000 mg del ingrediente activo. La dosis se puede seleccionar, por ejemplo, a cualquier dosis dentro de cualquiera de estos intervalos, para eficacia terapéutica y/o ajuste sintomático de la dosis al sujeto que se trata. En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se administran por inhalación como se describió, por ejemplo, en los documentos US 8257741, US 8263128, WO 2010/132827, WO 2010/102066, WO 2012/040502, WO 2012/031129, y/o WO 2010/102065, de 1 a 20, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 1 a 4 o 1 a 3 veces al día, o una o dos veces al día. En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se administran de 1 a 5 veces al día.
- En algunas modalidades, la dosis unitaria es suficiente para proporcionar uno o más de: (a) una $C_{\text{máxima}}$ de aproximadamente 1 a 5000 ng/mL del compuesto en el plasma de un sujeto o en una $C_{\text{máxima}}$ de aproximadamente 1 a 5000 ng/mL del compuesto en la sangre del sujeto cuando se administra al sujeto; y (b) aproximadamente de 1 a 5000 ng/mL del compuesto en el plasma de un sujeto 24 h después de la administración o aproximadamente de 1 a 5000 ng/mL del compuesto en la sangre del sujeto 24 h después de la administración al sujeto.
- La cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Estructura 1, el tautómero del compuesto, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, no está asociado con efectos secundarios adversos, en algunas modalidades. Tales efectos secundarios adversos incluyen disminución de la función pulmonar, aumento o disminución de la presión sanguínea, inmunodepresión, supresión de la médula ósea, anemia, hipoxia, en el sujeto en comparación con el sujeto antes de la administración.

Prevención y tratamiento de enfermedades

- En un aspecto, la presente descripción proporciona un compuesto de Estructura 1, un tautómero del compuesto, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos para tratar una o más enfermedades, donde la Estructura 1 se describe en la presente descripción.
- En consecuencia, la presente descripción proporciona compuestos, composiciones y métodos para inhibir cinasas, por ejemplo, tirosina cinasas, y métodos para tratar afecciones biológicas mediadas por, o asociadas con, tales cinasas. Por ejemplo, la presente descripción proporciona métodos para inhibir una o más cinasas, tales como, por

ejemplo, cinasa 2 del ciclo de división celular (cinasa Cdc2), c-Kit, c-ABL, p60src, AKT, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FGFR3, FLT-3, oncogén cinasa FYN relacionada con SRC, FGR, YES (Fyn), proteína tirosina cinasa específica de linfocitos (Lck), tirosina cinasa con dominios de homología de Ig y EGF (Tie-2), FMS (CSF-IR), KDR, EphA2, EphA3, EphA8, FLT1, FLT4, HCK, PTK5, RET, SYK, DDR1, DDR2, glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK-3), cinasa 2 dependiente de ciclina (Cdk2), cinasa 4 dependiente de ciclina (Cdk4), MEK1, NEK-2, CHK2, CK1 ϵ , Raf, cinasa 1 de punto de control (CHK1), cinasa 2 ribosomal S6 (Rsk2) y PAR-1. En particular, compuestos, composiciones y métodos para inhibir tirosina cinasas, tales como, por ejemplo, cinasa 2 del ciclo de división celular (cinasa Cdc2), ERK1/2, STAT3, AKT, c-Kit, c-ABL, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FGFR3, FLT-3, oncogén cinasa FYN relacionada con SRC, FGR, YES (Fyn), proteína tirosina cinasa específica de linfocitos (Lck), tirosina cinasa con dominios de homología de Ig y EGF (Tie-2), FMS (CSF-IR), KDR, EphA2, EphA3, EphA8, FLT1, FLT4, HCK, PTK5, RET, SYK, DDR1 y DDR2. En algunas modalidades, la tirosina cinasa es un receptor tirosina cinasa (RTK), tal como, por ejemplo, se proporcionan PDGFR, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$ o c-Kit, o sus combinaciones.

La presente descripción también proporciona compuestos, composiciones y métodos para tratar afecciones biológicas mediadas por, o asociadas con, cinasas, por ejemplo, tirosina cinasas, que incluyen cinasa Cdc2, c-Kit, AKT, c-ABL, ERK1/2, STAT3, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR3, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FLT-3, Fyn, Lck, Tie-2, GSK-3, Cdk2, Cdk4, MEK1, NEK-2, CHK2, CK1 ϵ , Raf, CHK1, Rsk2, FMS (CSF-IR), KDR, EphA2, EphA3, EphA8, FLT1, FLT4, HCK, PTK5, RET, SYK, DDR1, DDR2 y PAR-1. En particular, la presente descripción proporciona compuestos, composiciones y métodos para tratar afecciones biológicas mediadas por, o asociadas con, tirosina cinasas, que incluyen cinasa Cdc2, AKT, c-Kit, c-ABL, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$, FGFR3, FLT-3, Fyn, Lck, Tie-2, FMS (CSF-IR), KDR, EphA2, EphA3, EphA8, FLT1, FLT4, HCK, PTK5, RET, SYK, DDR1 y DDR2. En algunas modalidades, la enfermedad o afección mediada por, o asociada con, una o más cinasas está mediada por una RTK, tal como, por ejemplo, PDGFR, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$, PDGFR- $\alpha\beta$ o c-Kit, o sus combinaciones.

La enfermedad o afección mediada por, o asociada con, una o más cinasas de la presente descripción, incluye PAH, PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, BMPR2, ALK1, endogolina asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, endogolina no asociada con telangiectasia hemorrágica hereditaria, PAH inducida por fármacos y PAH inducida por toxinas, PAH asociada o secundaria a una o más de esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, cáncer, cáncer refractario, cáncer metastásico, neoplasia, hipoplasia, hiperplasia, displasia, metaplasia, prosoplasia, desmoplasia, enfermedad angiogénica, trastornos de la función pulmonar, trastornos de la función cardiovascular, infección por VIH, hepatitis, hipertensión portal, hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, enfermedad pulmonar venooclusiva (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), enfermedad del corazón izquierdo, hipertensión pulmonar, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipovenilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroide, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante e insuficiencia renal crónica en diálisis; y enfermedades tales como hipertensión pulmonar, cardiopatía congénita, hipoxia, anemia hemolítica crónica, hipertensión pulmonar persistente del recién nacido, enfermedad venooclusiva pulmonar (PVOD), hemangiomatosis capilar pulmonar (PCH), enfermedad del corazón izquierdo, hipertensión pulmonar, disfunción sistólica, disfunción diastólica, enfermedad valvular, enfermedad pulmonar, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, esquistosomiasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), trastornos respiratorios durante el sueño, trastornos de hipovenilación alveolar, exposición crónica a gran altitud, anomalías del desarrollo, hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (CTEPH), hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales poco claros, trastornos hematológicos, trastornos mieloproliferativos, esplenectomía, trastornos sistémicos, sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleimoyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, trastornos metabólicos, enfermedad por almacenamiento del glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroide, obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante, enfermedades inmunológicas e inflamatorias, enfermedades hiperproliferativas, enfermedades renales y del riñón, enfermedades de remodelación ósea, enfermedades metabólicas, enfermedades vasculares e insuficiencia renal crónica en diálisis.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar la hipertensión arterial pulmonar (PAH) en un sujeto o una afección biológica asociada con PAH en un sujeto mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Estructura 1, un tautómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero, o una mezcla de los mismos, en donde se describe en la presente descripción un compuesto de Estructura 1. En algunas modalidades, la enfermedad o afección mediada por, o asociada con, una o más cinasas de la presente descripción se selecciona del grupo que consiste de PAH, PAH primaria, PAH idiopática, PAH hereditaria, PAH refractaria, PAH inducida por fármacos, PAH inducida por toxinas y PAH con enfermedades secundarias.

La hipertensión arterial pulmonar (PAH) es una enfermedad potencialmente mortal caracterizada por una elevación marcada y sostenida de la presión de la arteria pulmonar. La enfermedad provoca insuficiencia ventricular derecha (VD) y muerte. Los enfoques terapéuticos actuales para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar crónica proporcionan principalmente alivio sintomático, así como también cierta mejora del pronóstico. Aunque se postula para todos los tratamientos, falta evidencia de efectos antiproliferativos directos de la mayoría de los enfoques. Además, el uso de la mayoría de los agentes aplicados actualmente se ve obstaculizado por efectos secundarios no deseados o por vías de administración de fármacos inconvenientes. Los cambios patológicos de las arterias pulmonares hipertensas incluyen lesión endotelial, proliferación e hipercontracción de células del músculo liso vascular (SMC) y proliferación de fibroblastos. Además, el estado del paciente con PAH se puede evaluar de acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (modificada según la Clasificación Funcional de la Asociación de Nueva York) como se conoce en la técnica.

En algunas modalidades, los compuestos de Estructura 1 tratan o previenen la PAH en pacientes en los que fracasó la terapia anterior, especialmente después de recibir al menos un prostanoide, un antagonista de endotelina o un inhibidor de PDE V. En otras modalidades, los compuestos tratan o previenen la PAH en pacientes que están afectados más gravemente, en particular en pacientes con un estado funcional de Clase II a Clase IV, o un estado funcional de Clase III o IV más grave. En modalidades adicionales, los compuestos tratan o previenen la PAH en pacientes que albergan mutaciones de BMPR2.

La presente descripción proporciona métodos para prevenir o tratar sujetos que padecen hipertensión pulmonar idiopática o primaria, hipertensión familiar, hipertensión pulmonar secundaria a enfermedad del tejido conectivo, defectos cardíacos congénitos (derivaciones), fibrosis pulmonar, hipertensión portal, infección por VIH, enfermedad de células falciformes, fármacos y toxinas, por ejemplo, anorexígenos, cocaína, hipoxia crónica, enfermedad obstructiva pulmonar crónica, apnea del sueño y esquistosomiasis, hipertensión pulmonar asociada con afectación venosa o capilar significativa (enfermedad venooclusiva pulmonar, hemangiomatosis capilar pulmonar), hipertensión pulmonar secundaria que está fuera de proporción con el grado de disfunción ventricular izquierda y/o hipertensión pulmonar persistente en recién nacidos, especialmente en sujetos en los que previamente fracasó la terapia previa para la PAH.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un compuesto de Estructura 1, un tautómero del compuesto, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezclas de los mismos para tratar una o más enfermedades asociadas con hiperproliferación, neoplasia, hipoplasia, hiperplasia, displasia, metaplasia, prosoplasia, desmoplasia, angiogénesis, inflamación, función pulmonar y función cardiovascular, donde se describe en la presente descripción un compuesto de Estructura 1.

Las enfermedades hiperproliferativas, inmunológicas e inflamatorias, metabólicas y vasculares son conocidas en la técnica, y tales enfermedades, como se describió en la Patente provisional de EE.UU. No 61/751,217, son dianas terapéuticas para los compuestos y agentes descritos en la presente descripción.

Otro aspecto de la presente descripción se relaciona con un método para prevenir o reducir la presión pulmonar elevada en un sujeto, al administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Estructura 1, un tautómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero, o una mezcla de los mismos, donde se describe en la presente descripción un compuesto de Estructura 1. Ver, por ejemplo, Resumen. En algunas modalidades, los compuestos de Estructura 1 tratan o previenen una afección biológica asociada con PAH, tal como, por ejemplo, anormal: presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP); presión pulmonar; salida cardíaca; hipertrofia del ventrículo derecho (VD); e hipertrofia de la AP.

En algunas modalidades, los compuestos de Estructura 1 reducen la presión pulmonar asociada con un aumento en una o más de la función del ventrículo derecho (VD), la presión sistólica de la arteria pulmonar (AP) y/o el gasto cardíaco en el sujeto en comparación con el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la reducción de la presión pulmonar se asocia con una disminución en uno o más de hipertrofia del VD, hipertrofia de la AP, RVSP, presión sostenida de la AP y el riesgo de accidente cerebrovascular en el sujeto en comparación con el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución del 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución del 40 %.

Una reducción de la presión pulmonar, en algunas modalidades, no está asociada con una disminución de la función pulmonar y/o un aumento de la presión sanguínea sistémica en el sujeto en comparación con el sujeto antes de la administración. Se conocen en la técnica métodos para medir la función pulmonar y la presión sanguínea. En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para tratar la hipertensión arterial pulmonar (PAH) en un sujeto, que comprende: modular el estado de fosforilación ("PS") de una o más dianas aguas abajo del receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas o del receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas o ambos, en donde la diana aguas abajo es cualquier sustrato fosforilado como resultado de la activación de PDGFR- α y/o PDGFR- β , al administrar al sujeto un compuesto de Estructura 1, un tautómero, enantiómero, isómero o estereoisómero del compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, enantiómero,

5 isómero o estereoisómero del compuesto, o cualquier mezcla de los mismos, en donde la diana aguas abajo se selecciona del grupo que consiste en AKT, PDGFR, STAT3, ERK1 y ERK2, o cualquier otra diana aguas abajo del PDGFR- α y/o del PDGFR- β , y en donde el compuesto de Estructura 1 se describe en la presente descripción. Los perfiles del estado de fosforilación para proteínas, cinasas/receptores, se pueden determinar mediante el uso de técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, ensayos de cinasa Z-lyte, Invitrogen Select Screen® y otros ensayos de cinasas conocidos en la técnica.

10 En modalidades adecuadas, la modulación de la actividad del receptor cinasa es una inhibición de la actividad del receptor cinasa. PDGFR, es decir, PDGFR- α , PDGFR- β , PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$, y/o c-Kit son ejemplos de RTK que se inhiben en algunas modalidades de la presente invención. En algunas modalidades, la inhibición es al menos una inhibición de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En algunas modalidades, la modulación de PSR es una modulación de uno o más de AKT, STAT3, ERK1, ERK2, PDGF y PDGFR, es decir, PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ y PDGFR- $\alpha\beta$. En algunas modalidades, la modulación de PS es una disminución de STAT3 fosforilada a STAT3 total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En algunas modalidades, la modulación de PS es una disminución de ERK1 difosforilada a ERK1 total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En otras modalidades, la modulación de PS es una disminución de ERK2 difosforilada a ERK2 total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 50, 60, 70, 80, 85, 90 o 95 %.

15 20 25 30 En algunas modalidades, la modulación de PS es una disminución de ERK1 monofosforilada a ERK1 total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En algunas modalidades, la modulación de PS es una disminución de PDGFR fosforilado a PDGFR total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %. En algunas modalidades, la modulación de PS es una disminución de AKT fosforilada a AKT total en el sujeto en comparación con la PS en el sujeto antes de la administración. En algunas modalidades, la disminución es al menos una disminución de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 %.

35 Ejemplos

40 La presente invención se ilustra además mediante los ejemplos siguientes. Lo siguiente es una descripción de los materiales y métodos usados a lo largo de los ejemplos, que ilustra que las vías de señalización de RTK se activan en condiciones de enfermedades humanas, por ejemplo, PAH y en modelos animales de la enfermedad.

Materiales. PK10453, (S)-N-(3-(1-((6-(4-hidroxi-3-metoxifénil)pirazin-2-il)amino)etil)fenil)-5-metilnicotinamida, es decir, Estructura 2, se sintetizó por Organix, Inc. (Woburn, MA). Las células de músculo liso de la AP humana y los medios de cultivo celular se obtuvieron de Cell Applications, Inc. PDGFBB, ácido para-toluenosulfónico, hidróxido de amonio e IR780 se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri). El mesilato de imatinib se obtuvo de LC Laboratories (Woburn, MA). Los fibroblastos de pulmón fetal humano (HLF) se obtuvieron de Cell Applications, Inc., San Diego. El medio DMEM se obtuvo de Mediatech (Manassas, VA.). PDGFAA, PDGFBB y Glutamax se obtuvieron de Life Technologies (Grand Island, NY). El ácido paratoluenosulfónico, el hidróxido de amonio, el IR780 y la monocrotalina (C2401, lote 031M1921V y lote SLBB7802V) se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri). Anti-fosfo-AKT (Ser 473), anti-fosfo-AKT (Thr308), pan-AKT (Acm de ratón CST2920 y Acm de conejo CST2965), anti-fosfo-ERK1/2, anti-fosfo-STAT3 y anticuerpos STAT3 totales se obtuvieron de Cell Signaling Technologies, (Waltham, MA). El anticuerpo anti-ERK1/2 total se obtuvo de Protein Simple (CA). Los anticuerpos antífactor von-Willebrand, actina, fosfo-PDGFR α (Y754) y PDGFBB se obtuvieron de AbCam (Cambridge, MA). Los anticuerpos contra PDGFAA (sc-128), PDGFR-alfa (sc-338), PDGFR-beta (sc-432) y pPDGFR-beta (Tyr 1021) (sc-12909) se obtuvieron de Santa Cruz Biotechnology (CA). La IgG anti-ratón de cabra 680LT, la IgG anti-conejo de cabra IRDye 800 W y el tampón de bloqueo Odyssey se obtuvieron de Licor (Lincoln, NE).

60 65 70 75 80 85 90 95 Ensayo de cinasa in vitro. Se realizó un ensayo de cinasa Z-lyte para determinar la inhibición de la fosforilación mediada por PDGFRalfa y PDGFRbeta por PK10453 (Estructura 2). Se modelaron curvas de titulación de diez puntos para calcular la IC₅₀ (Pantalla de selección de Invitrogen®).

Ensayo de proliferación de PASMC. Se obtuvieron células del músculo liso de la arteria pulmonar humana (PASMC) de Cell Applications (San Diego, CA.) y se cultivaron hasta una confluencia del 50 % en un formato de 96 pocillos. Las células se cambiaron a medio sin suero 24 horas antes de la estimulación con PDGFBB 50 ng/mL y concentraciones variables de PK10453 (Estructura 2). Después de 24 horas de tratamiento, se realizó un ensayo de proliferación de células Cyquant NF (Invitrogen®), y la señal fluorescente se midió con un lector de placas Cytofluor. Los datos se basan en un promedio de 8 réplicas en cada concentración.

Western en célula (ICW). Para comparar los perfiles inhibidores de PK10453 (Estructura 2) e imatinib para la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB y PDGFAA, se realizaron ICW, con modificaciones, de acuerdo con el método de Chen y otros, en el documento "A cell-based immunocytochemical assay for monitoring kinase signaling pathways and drug efficacy." Analytical biochemistry; Vol. 338:136-42 (2005). Los HLF se mantuvieron en subcultivo con no más de 6 pases en DMEM con 5 % de FBS y 4 mM de Glutamax a 37 °C, 5 % de CO₂. Los HLF se sembraron en placas y se cultivaron hasta una confluencia del 70-80 % en placas de 96 pocillos y luego se privaron de suero durante 48 horas. Las células se trataron con el fármaco (PK10453 o imatinib) en las concentraciones indicadas durante 30 minutos y luego se expusieron a 10 ng/mL de PDGF AA o BB durante 7,5 min. Las células se fijaron en formaldehído al 3,7 %, se lavaron con Triton X-100 al 0,1 % y se trataron con tampón de bloqueo Odyssey durante 90 min. Las proteínas se incubaron durante la noche con Acm de conejo diluido 1:100 para AKT fosforilado (Ser 473 o Thr 308) y Acm de ratón 1:100 para Akt-pan-4040D total. Los anticuerpos se detectaron mediante el uso de anticuerpos conjugados con IgG anti-ratón de cabra IRDye 680LT y IgG de conejo a IRDye 800W. Después del lavado, la señal se cuantificó mediante el uso de un sistema de obtención de imágenes infrarrojas Odyssey (LI-COR). La señal de fosfoproteína (800 nm) se normalizó con la señal de proteína total (700 nm) adquirida de cada pocillo y se promediaron e informaron duplicados experimentales en la misma placa.

Animales. Para este estudio se usaron ratas macho Sprague Dawley (peso 320-330 gramos; Taconic Inc.). Los animales se alojaron en jaulas para ratas estándar con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h, y se les proporcionó comida y agua estándar para ratas ad libitum. Los animales fueron cuidados y usados de acuerdo con las directrices del NIH. Todos los protocolos con animales fueron aprobados por el Bassett Medical Center y Pulmokine IACUC.

Formulación y suministro de aerosoles. Se disolvió PK10453 (Estructura 2) a una concentración de 20 mg/mL en ácido tosílico 1 M. La nebulización se realizó con un nebulizador PARI con una presión de aire de 12,5 psi. Las gotas de aerosol fueron neutralizadas por vapor de amoníaco que pasó a la corriente de aire del aerosol. Luego, las partículas se secaron al hacerlas fluir a través de un anillo anular de cartuchos de perlas de sílice antes de llegar a la cámara de exposición. La cámara de exposición de 6 puertos era un sistema de exposición exclusivamente para la nariz diseñado y construido a medida por Powerscope Inc. (Minneapolis, MN). El régimen de flujo de vacío en cada puerto se controló por separado mediante un caudalímetro. El tamaño de las partículas de aerosol se midió en el puerto de salida de la columna de secado con un impactador en cascada Anderson (Mark II). El diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) fue 2 µm y la desviación estándar geométrica asociada (GSD) fue 1,6. El mesilato de imatinib se disolvió en agua a 20 mg/mL y se administró mediante un nebulizador PARI y luego se secó al pasarlo a través de un anillo anular de cartuchos de perlas de sílice antes de la inhalación.

Estimación de la dosis inhalada. Los filtros expuestos a PK10453 (Estructura 2) durante 4 u 8 min (n = 6 cada grupo) a través de la cámara de exposición Powerscope se colocaron en viales de vidrio de color ámbar. Se añadieron doce mililitros de metanol:acetonitrilo 1:3 (v/v) a cada vial que contenía un filtro durante aproximadamente 1 hora, con mezcla periódica, seguido de sonicación durante 60 segundos. Luego se diluyó una alícuota 100 veces al añadir 10 µL del extracto de filtro desconocido a 990 µL de metanol:acetonitrilo 1:3 (v/v). Las muestras se mezclaron con vórtex durante 30 segundos y luego se combinó una alícuota diluida de 100 µL con 100 µL de 172 ng/mL de un estándar interno no relacionado químicamente (PK18855) en metanol:agua 1:1, se mezcló con vórtex y se transfirió a viales de muestrador automático para análisis LC-MS/MS. Los extractos de filtro se compararon con una curva de calibración preparada en metanol al 100 % (PharmOptima®, Inc.). La concentración de aerosol de PK10453 (Estructura 2) en µg/litro de aire se calculó basado en el promedio total de µg de PK10453 (Estructura 2) en los filtros para los tiempos de exposición de 4 y 8 min, y el régimen de flujo que pasa por cada filtro (0,8 L/min). La dosis inhalada se calculó con la concentración promedio de PK10453/cm² papel de filtro (promedio de exposiciones de 4 y 8 min), la ventilación mínima promedio medida por pleitismografía (0,15 L/min) y una fracción de deposición estimada de 0,1. La dosis de imatinib de 8 min se basó en análisis gravimétrico.

Obtención de imágenes. La distribución espacial de PK10453 inhalado (Estructura 2) en el pulmón se evaluó mediante imágenes fluorescentes. Se añadió un trazador fluorescente de infrarrojo cercano, IR-780, a la solución del fármaco en el nebulizador para garantizar que las partículas de aerosol secas contuvieran tanto el fármaco como el trazador de infrarrojos. Después de una exposición de dos min, los animales se colocaron bajo anestesia general, se intubaron mediante traqueotomía y se extirparon los pulmones. Se infundió OCT/PBS a través de la arteria pulmonar, se insufló el pulmón con aire y se congelaron los pulmones en la fase de vapor de nitrógeno líquido. Se tomaron imágenes de secciones seriadas de pulmón de aproximadamente 2 mm en un Licor Odyssey Imager.

Estudios farmacocinéticos. PK10453 (Estructura 2) se administró por vía intravenosa o por inhalación a animales, que luego se sacrificaron en los tiempos 0, 10, 20 y 60 min (n = 3 en cada momento). Se tomaron muestras de sangre mediante punción cardíaca y se extirparon los pulmones. Los pulmones se homogeneizaron y se extrajo PK10453 (Estructura 2) con una mezcla 1:3 de acetonitrilo metanol. De manera similar, el plasma se extrajo con una mezcla 1:3 de acetonitrilo metanol. El fármaco se analizó mediante LC MS/MS (PharmOptima Inc., Portage MI). Se ajustaron curvas exponenciales de primer orden a los datos con Excel. El AUC se determinó con el método de integración trapezoidal.

Estudio de eficacia en el modelo MCT en ratas - Estudio dosis-respuesta de PK10453 (Estructura 2) en el modelo MCT en ratas. Ratas macho Sprague Dawley recibieron 60 mg/kg de IPMCT de MCT y, después de 3 semanas, se

- 5 administró PK10453 (Estructura 2) o control del vehículo por inhalación. Se estudiaron cuatro grupos: control de vehículo (exposición de 4 min) y tres grupos de tratamiento de PK10453 (Estructura 2) con tiempos de exposición de 2 min (D2), 4 min (D4) u 8 min (D8) tres veces al día. Estos regímenes se administraron durante dos semanas. El vehículo consistió en ácido tosílico 1 M en aerosol neutralizado con vapor de amoníaco como se describió anteriormente. El pH de una solución preparada al disolver partículas de aerosol capturadas en agua se midió para cada dosis y estuvo consistentemente en el intervalo de 5,5-6,0. Al final del estudio, se midió la presión sistólica del VD y se diseccionaron y pesaron las cámaras del corazón.
- 10 Estudio de eficacia en el modelo MCT en ratas: PK10453 (Estructura 2) frente a imatinib en el modelo MCT en ratas. A ratas Sprague Dawley macho se les administró MCT 60 mg/kg IP. Tres semanas después, se administró vehículo (ácido tosílico 1 M), PK10453 (Estructura 2 a 20 mg/mL de base libre en ácido tosílico 1 M) o mesilato de imatinib (20 mg/mL en solución para nebulizador) a grupos designados durante 8 min de exposición por inhalación, tres veces al día, durante dos semanas. Al final del estudio se midió la presión RVSP; el pulmón y el corazón se fijaron en formalina. Para medir la RVSP, los animales fueron sedados con isoflurano, intubados mediante traqueotomía y ventilados con un ventilador regulado por presión TOPOVENT (presión inspiratoria máxima 18 cm H₂O, PEEP 5 cm). Despues de la esternotomía, se inserta un catéter Scisense de alta fidelidad a través del ápice del VD.
- 15 Estudio de eficacia en el modelo MCT+PN en ratas. En ratas se realizó neumonectomía e implantación de un monitor de telemetría TRM53P en la arteria pulmonar (Telemetry Research, Nueva Zelanda y ADInstruments, Colorado). Dos semanas después de MCT, se administró PK10453 (Estructura 2) tres veces al día durante 1 semana. La dosificación se inició 2 semanas después de MCT en lugar de 3 semanas, porque en este modelo más agresivo los animales desarrollaron PAH más rápidamente y desarrollaron aflicción antes que en los animales tratados únicamente con MCT (datos no mostrados). Los dos grupos se sometieron a exposiciones de 4 min al control del vehículo o a PK10453 (Estructura 2). El muestreo de la presión de la AP se realizó 5 min antes de cada dosis matutina en animales ambulatorios en aire ambiente (presión atmosférica estimada de 716 mm Hg basado en la elevación de las instalaciones para animales). En el protocolo 4 (imatinib frente a vehículo), los animales recibieron transmisores DSI PAC40 seguidos de monocrotalina 50 mg/kg IP (lote SLBB7802V). Para este estudio se usó una dosis más baja de MCT, porque los intentos de usar 60 mg/kg de este lote de MCT dieron como resultado la necesidad de una eutanasia temprana en una alta proporción de animales debido a la pérdida de peso y la taquipnea. Dos semanas después de la inyección IP de MCT, se administró vehículo (mesilato 3 mg/mL) o mesilato de imatinib 20 mg/mL en solución para nebulizador durante exposiciones de 8 min tres veces al día durante 9 días. Los datos de telemetría se obtuvieron durante 10 min diarios antes de cada dosis matutina para este protocolo.
- 20 Estudio de lazos PV. En una cohorte separada de animales, se desarrolló el modelo MCT+PN como se describió anteriormente, y luego se administró PK10453 (Estructura 2) durante 4 u 8 min tres veces al día al grupo tratado con el fármaco. El grupo de control del vehículo se sometió a exposiciones de 4 min tres veces al día. Los lazos de presión volumen (PV) se obtuvieron con un sistema de admittance (Scisense, Inc.) después de 14 días de tratamiento, mientras que las ratas estaban bajo anestesia general con isoflurano y FiO₂ al 100 %. Además, o como alternativa, se obtuvieron las presiones del VD en cada grupo después de 14 días de tratamiento. En un subconjunto de cada grupo, se obtuvieron lazos de presión volumen (PV) con un sistema de admittance (catéter de alta fidelidad FTE1918B, Scisense, Inc.) después de 14 días de tratamiento. Despues de la inducción de la anestesia general y la intubación mediante traqueotomía, las ratas fueron colocadas en un ventilador controlado por presión (TOPOVENT). La anestesia general consistió en isoflurano y FiO₂ al 100 % con presión inspiratoria máxima establecida en 18 cm y PEEP de 5 cm H₂O. Se realizó toracotomía izquierda con catéter de admittance en el VD a través del tracto de salida del VD.
- 25 Estudio de presión sanguínea sistémica. El efecto de PK10453 (Estructura 2) sobre la presión sanguínea sistémica se estudió en ratas tratadas con MCT ambulatorio con transmisores DSI PAC40 implantados en la aorta descendente. Tres semanas después de la administración de 60 mg/kg de MCT IP, los animales inhalaron PK10453 (Estructura 2) o vehículo 3 veces/día con una exposición de 4 min durante 7 días. La presión arterial se registró antes de cada dosis matutina.
- 30 Pletismografía. La pletismografía se realizó con un pletismógrafo bicameral EMKA y el software IOX. Los parámetros medidos incluyeron frecuencia respiratoria, volumen corriente, minutos de ventilación, flujo inspiratorio y espiratorio máximo y resistencia de las vías respiratorias (SRaw). Los animales se aclimataron al pletismógrafo durante tres días antes de la primera adquisición de datos. Las mediciones se realizaron antes de la primera dosis del fármaco y al final del estudio.
- 35 Histología y análisis morfométrico. Al final del estudio, se extrajeron el corazón y los pulmones de los animales ventilados bajo anestesia general. Se infundió solución salina heparinizada bajo presión a través de la arteria pulmonar principal. El lóbulo superior derecho se ató inmediatamente y se colocó en nitrógeno líquido para análisis de transferencia Western y ensayo NanoPro 100. Se extrajo el corazón y se diseccionaron y pesaron la pared libre del VD, el tabique interventricular y la pared libre del VI. Se infundió formalina tamponada (10 %) bajo presión tanto a través de la arteria pulmonar como de la tráquea. El análisis morfométrico se realizó en tejido fijado con formalina teñido con H&E y seccionado a 8 µm. Un técnico que desconocía el grupo de tratamiento midió el área del medio y el área del lumen de las arteriolas pulmonares con el software Image J. Se realizaron mediciones en 20 arteriolas

- 5 pulmonares por sección. Se determinó la relación entre el área del lumen y el área del medio total. Esta relación normaliza la variación en el área total de la arteriola pulmonar. Además, se realizó un análisis oclusivo en el estudio monocrotalina más neumonectomía (específicamente el estudio de eficacia 5) de acuerdo con el método de Homma y otros, en el documento "Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in protection against monocrotaline-induced pulmonary hypertension in pneumonectomized rats by dehydroepiandrosterone." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. Vol. 295:L71-8 (2008). Brevemente, a las arterias precapilares se les asignó grado 0 si no había evidencia de lesiones neointimales, grado 1 para menos del 50 % de oclusión luminal y grado 2 para más del 50 % de oclusión. Las tinciones tricrómicas de Masson se realizaron en secciones de pulmón del modelo MCT+PN.
- 10 10 Inmunoensayo NanoPro. Las diferencias relativas en las isoformas ERK1/2 y STAT fosforiladas se midieron con un sistema de inmunoensayo NanoPro100® (Protein Simple/Cell Biosciences, CA). Ver documento Fan y otros, "Nanofluidic proteomic assay for serial analysis of oncoprotein activation in clinical specimens." Nat Med 15:566-571 (2009).
- 15 15 Inmunohistoquímica. La recuperación del antígeno se realizó con tampón citrato (pH 6,0) o tampón Tris-EDTA (pH 9,0). Se realizó inmunohistoquímica para las siguientes dianas: CD20 (un marcador de células B), CD3 (un marcador de células T), factor von Willebrand (vWF), STAT3 total, fosfoSTAT3 (Tyr705), PDGFR-alfa total, PDGFR-beta total y fosfoPDGFR-beta. Había péptidos competidores disponibles para PDGFR-alfa y fosfo-PDGFR-beta. La detección de señal se realizó con un kit EXPOSE HRP/DAB (Abeam®).
- 20 20 Análisis estadístico. Los datos se presentan como media ± SEM a menos que se indique de cualquier otra manera. Se usó el Modelo Lineal General con la corrección de Bonferroni para comparaciones de múltiples grupos (SPSS 14.0). El nivel de significación se fijó en p=0,05.
- 25 25 Ejemplo de referencia 1: Caracterización de PK10453 (Estructura 2)
- 30 30 Un ensayo de cinasa in vitro demostró la IC₅₀ para PK10453 en ATP K_m fue 35 nM para PDGFR-α y 10,1 nM para PDGFR-β. Para imatinib la IC₅₀ en ATP K_m fue 71 nM para PDGFR-α y 607 nM para PDGFR-beta. Ver la Figura 1. La IC₅₀ de PK10453 para la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB en Ser473 fue 0,13 μM en comparación con 1,8 μM para imatinib (p<0,01), como se muestra en el ICW ilustrado en la Figura 2. La IC₅₀ de PK10453 para la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB en Thr308 fue 0,43 μM frente a 3,25 μM para imatinib (p<0,001). Las concentraciones IC₅₀ de PK10453 e imatinib para la fosforilación de AKT estimulada por PDGFAA no fueron significativamente diferentes.
- 35 35 Dosis inhalada estimada: PK10453 (Estructura 2) e imatinib. La concentración promedio de PK10453 fue 62,4 ± 3,3 μg/cm² de papel de filtro para la exposición de 4 min, y 137± 7,0 μg/cm² para la exposición de 8 min, lo que resultó en una concentración de aerosol de 91,65 μg/L de aire para la exposición de 4 min y 100,6 μg/L de aire para la exposición de 8 min. La concentración de aerosol de imatinib basada en el análisis gravimétrico fue 167 μg/L. La dosis inhalada promedio (8 min), al suponer una fracción de deposición de 0,1 y un peso de la rata de 300 g, fue aproximadamente 20 μg/kg para PK10453 y 40 μg/kg para imatinib, como se muestra en la Tabla 1. La dosis inhalada estimada se calculó a partir de la concentración medida de PK10453 (Estructura 2) y el análisis gravimétrico de imatinib en el aerosol, minutos de ventilación (MV) medidos, la fracción de deposición estimada de 0,1 y el peso de la rata de 300 g.
- 40 40 45 45 Tabla 1
- | API | Conc. Aerosol ug/L | Expo-sición Min | MV L/min | Tiempo de Exposición | Fracción de Disposición Total | Fracción de Deposición Pulmonar | Inhalado Total | Depositado Total ug | Depositado Pulmonar ug | Depositado Pulmonar ug/kg |
|---------|--------------------|-----------------|----------|----------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------|---------------------|------------------------|---------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| PK104S3 | 96,13 | 8,00 | 0,15 | 1,20 | 0,10 | 0,60 | 115,36 | 11,54 | 6,92 | 23,07 |
| matinib | 167,4 | 8,00 | 0,15 | 1,20 | 0,10 | 0,60 | 200,88 | 20,09 | 12,05 | 40,18 |
- 50 50 55 55 Distribución pulmonar y farmacocinética de PK10453 inhalado (Estructura 2). Las imágenes fluorescentes de las secciones de pulmón después de la inhalación de PK 10453 con el trazador IR780 se muestran en la Figura 3, donde se muestra que la intensidad de la fluorescencia está bien distribuida por los pulmones. La red de líneas más oscuras surge del tejido conectivo y, por lo tanto, no representa las vías respiratorias afectadas por la enfermedad. La distribución espacial de imatinib fue similar (datos no mostrados).
- 60 60 65 65 Para el estudio farmacocinético, se comparó la concentración de PK10453 (Estructura 2) en el pulmón cuando se administra por inhalación con la concentración alcanzada con la administración intravenosa. Como se describió en el documento Morén "Aerosols in medicine: principles, diagnosis, and therapy." Ámsterdam; Nueva York: Elsevier. xx, 429 (1993) y Phalen y otros, "Inhalation exposure methodology." Environ Health Perspect 56:23-34 (1984)), es posible estimar la ventaja farmacocinética de la inhalación con relación a la administración intravenosa, R_d, al comparar el AUC de un gráfico de la concentración del fármaco en función del tiempo después de la administración respiratoria e intravenosa:

$$R_d = [(AUC_{\text{pulmón}}/AUC_{\text{plasma}})_{\text{respiratorio}}]/[(AUC_{\text{pulmón}}/AUC_{\text{plasma}})_{\text{IV}}]$$

5 Los datos farmacocinéticos se modelaron en una curva exponencial de primer orden y el AUC se calculó a partir de las curvas (ver Tabla 2). La Figura 4 muestra el nivel del fármaco en pulmón y plasma en función del tiempo después de la inhalación o administración intravenosa de PK10453 (Estructura 2). Los datos indican una ventaja de 45 veces del PK10453 inhalado en comparación con el administrado por vía intravenosa ($R_d=44,6$).

10

15 Tabla 2

$Y = A \times e^{(bX)}$	A (ng/g pulmón)	b (min ⁻¹)	R ²
Pulmón (INH)	2498	0,03	0,89
Plasma (INH)	132,7	0,07	0,93
Pulmón (IV)	440	0,06	0,96
Plasma (IV)	1260	0,07	0,92

	AUC
Pulmón (INH)	1901,82
Plasma (INH)	65,47
Pulmón (IV)	211,89
Plasma (IV)	617,25
Rd	44,58

20

25

Ejemplo de referencia 2 - Eficacia del modelo MCT

30 Los valores de RVSP se muestran en la Figura 5A. En el grupo de vehículo (n=6), la RVSP fue $80,4 \pm 2,6$ mm Hg. Para los grupos de tratamiento, D2 (n=6), $51,4 \pm 6,5$; D4 (n=6), $44,4 \pm 3,8$; y D8 (n=5), $37,1 \pm 4,5$ mm Hg ($p<0,001$). La RVSP del grupo de control normal fue $28,5 \pm 2,6$ mm Hg (n = 3). En el grupo D4, hubo una reducción del 44 % en RVSP, y en el grupo D8, hubo una reducción del 54 % en RVSP en comparación con el grupo tratado con vehículo. También hubo una reducción significativa en el grado de hipertrofia del VD medido por la relación (VD+IVS)/peso del VI. Ver la Figura 5B. Los datos están representados por esta relación porque el tabique es compartido por el VD y el VI. Sin embargo, el uso de la relación VD/(IVS+VI) también mostró resultados similares.

35

40 Además, había 6 animales en el grupo de vehículo, pero no se obtuvieron presiones sistólicas finales del VD precisas debido al sangrado en 2 animales. Por lo tanto, la presión sistólica del VD se basa en n=4 en el grupo de vehículo y fue $57,9 \pm 7,6$ mm Hg. En el grupo PK10453 (Estructura 2) (n=12) la presión sistólica final del VD fue $36,3 \pm 2,6$ mm Hg, y en el grupo de imatinib (n=6) fue $31,8 \pm 1,8$ mm Hg ($p=0,001$ Vehículo frente a PK10453; $p = 0,002$ Vehículo frente a Imatinib, Figura 5C). El volumen sistólico final fue mayor en el grupo de vehículo ($158 \pm 12,6$ μ L) frente a PK10453 ($99,5 \pm 10$ μ L) e imatinib ($81 \pm 4,3$ μ L) ($p=0,05$ vehículo frente a PK10453; $p=0,014$ vehículo frente a imatinib; $p = \text{NS}$ PK10453 frente a imatinib). No hubo diferencias significativas entre los grupos para los siguientes parámetros: volumen diastólico final, fracción de eyección, gasto cardíaco, trabajo sistólico. La relación del lumen con medio mejoró tanto con PK10453 como con imatinib en comparación con el vehículo en el modelo MCT (Vehículo (V, n=4): $0,55 \pm 0,1$; PK10453 (D8, n=12): $0,94 \pm 0,08$; Imatinib (I8, n=5): $0,99 \pm 0,07$; $p<0,01$ D8 frente a V, $p<0,05$ I8 frente a V, Figura 5D).

45

Ejemplo de referencia 3 - Estudios de eficacia en el modelo MCT+ PN en ratas

50

55 Estudios de telemetría. Se describen los resultados del estudio de telemetría en el modelo MCT+PN en ratas. El día 0 antes del inicio del tratamiento, la presión sistólica de la AP en los grupos de vehículo fue $41,0 \pm 11,7$ mm Hg, y en el grupo de PK10453 (Estructura 2), fue $43,1 \pm 3,5$ mm Hg ($p = \text{NS}$). Despues de cinco días de tratamiento, la presión sistólica de la AP fue $69,4 \pm 12,9$ mm Hg en el grupo de vehículo y fue significativamente menor a $47,3 \pm 3,0$ mm Hg en el grupo de PK10453 ($p < 0,01$). En el día 8 de tratamiento, la presión sistólica de la AP en el grupo de vehículo fue $83,5 \pm 8,5$, pero significativamente menor a $47,3 \pm 4,9$ mm Hg en el grupo de PK10453 ($p < 0,001$).

60

65

65 En un estudio de telemetría separado de PK10453 (Estructura 2), el día 1 antes del inicio del tratamiento, la presión sistólica de la AP en el grupo de vehículo fue $47,4 \pm 10,2$ mm Hg, y en el grupo de PK10453, fue $43,1 \pm 3,5$ mm Hg ($p = \text{NS}$). Despues de cinco días de tratamiento, la presión sistólica de la AP fue $67,4 \pm 11,4$ mm Hg en el grupo de vehículo y fue significativamente menor a $47,2 \pm 3,0$ mm Hg en el grupo de PK10453 ($p = 0,03$). El día 9 de tratamiento, la presión sistólica de la AP en el grupo de vehículo fue $92,8 \pm 9,1$ mm Hg, pero significativamente menor a $50,5 \pm 7$ mm Hg en el grupo de PK10453 ($p = 0,03$). Para el estudio de telemetría de imatinib (estudio 4), el día 1, la presión sistólica de la AP en el grupo de vehículo fue $51,4 \pm 8,9$ mm Hg y en el grupo de imatinib de $41,5 \pm 3,5$ mm Hg. En el día 9 de tratamiento, la presión sistólica de la AP en el grupo de vehículo fue $80,4 \pm 14,2$ mm Hg y en el grupo de imatinib fue $75,1 \pm 7$ mm Hg ($p = \text{NS}$). Ver la Figura 6.

5 Medición de presión del VD y lazos PV en el modelo MCT+PN; Estudio dosis-respuesta de PK10453 (Estructura 2). En una cohorte separada de animales, el modelo MCT+PN se desarrolló como se describió. La presión del VD se obtuvo después de 14 días de exposición al vehículo y tratamiento con PK10453 con exposiciones de 4 min (D4) y 8 min (D8) tres veces al día. En el grupo de vehículo ($n=9$), la presión sistólica del VD fue $75,7 \pm 7,1$ mm Hg, en el grupo D4 ($n=10$) la presión sistólica del VD fue $40,4 \pm 2,7$ mm Hg, y en el grupo D8 MCT+PN, la presión sistólica del VD fue $43 \pm 3,0$ mm Hg ($p<0,001$ V frente a D4 y V frente a D8; Figura 7A). Los lazos PV se obtuvieron en un subconjunto de animales de cada grupo (Vehículo $n=3$; D4 $n=5$, D8 $n=4$).

10 Ejemplo de referencia 4 - Eficacia del modelo MCT + PNMCT+PN

15 Estudio de los lazos PV. La presión sistólica final (ESP) del VD fue menor y la fracción de eyección (FE) del VD fue mayor en los grupos de tratamiento D4 y D8 en comparación con el control de vehículo. El gasto cardíaco en el grupo D8 aumentó en comparación con el grupo Vehículo. Ver la Tabla 3. Los animales del estudio se sometieron a neumonectomía izquierda seguida, 7 días después, de MCT 60 mg/kg IP. Dos semanas después de la administración de MCT, se administró PK10453 (Estructura 2) o vehículo por inhalación tres veces al día durante dos semanas. Los lazos PV se adquirieron al final de este período. Con respecto a la Tabla 3: V=vehículo; D4=inhalación de 4 min de PK10453; D8=inhalación de 8 min de PK10453; $n=4$ cada grupo; * $p<0,001$; ** $p<0,01$; § $p<0,05$ frente a V.

20

Tabla 3										
Grupo	Sel	HR (bpm)	ESP (mm Hg)	EDP (mm Hg)	ESV (μl)	EDV (μl)	SV (μl)	CO ml/min	EF	SW
25	V	Media	290	83,21	10,31	484,17	621,32	137,15	39,03	25,43 10123
		SEM	25	3,49	1,24	148,32	139,49	14,19	0,62	8,36 2698
	D4	Media	288	43,20*	2,629	144,14	408,95	264,81	77,59	65,4** 9818
		SEM	21	6,08	0,30	25,89	34,94	12,66	2,59	3,47 769
	D8	Media	315	38,44*	4,87	155,40	488,68	333,28*	105,1**	67,1** 5481
30		SEM	41	1,43	1,86	22,69	52,00	49,81	15,51	4,59 1829

35 Efecto de PK10453 (Estructura 2) sobre la hipertrofia del VD. El tratamiento con PK10453 dio como resultado una disminución significativa de la hipertrofia del VD en el modelo MCT+ PNMCT+PN en ratas. Ver la Figura 7B. La relación (VD+IVS)/VI en el grupo de vehículo ($n=11$) fue $0,88 \pm 0,05$, en el grupo PK10453 D4 ($n=13$) fue $0,62 \pm 0,04$ y en el grupo PK10453 D8 ($n=7$) fue $0,68 \pm 0,05$ ($p<0,001$ D4 frente a V; $p=0,012$ D8 frente a V).

40 Análisis de la histología y morfología de la arteriola pulmonar. La relación entre el área del lumen y el área del medio (L/M) fue significativamente mayor en el grupo D8 tratado con PK10453 (Estructura 2) en comparación con los grupos D4 o vehículo: D8 ($n=5$) L/M $0,72 \pm 0,05$, D4 ($n=6$) L/M $0,33 \pm 0,06$, y el control de vehículo V ($n=6$): 0,26 \pm 0,04 ($p<0,0001$ D8 frente a V o D8 frente a D4). Ver la Figura 7C. El análisis de oclusión se realizó en las mismas muestras de animales usadas para las mediciones de la relación lumen/medio. El análisis de oclusión demostró una reducción significativa en las lesiones de oclusión de grado 2 en el grupo de tratamiento PK10453 D8 (V ($n=6$) 41,5 \pm 7,1 %, D4 ($n=6$) 28,5 \pm 4,2 %; D8 11,4 \pm 4,1 %; $p<0,01$ D8 frente a V; ver la Figura 7D. La Figura 8A muestra una tinción H&E de una lesión oclusiva (grado 2) en un animal tratado con vehículo (modelo MCT+PN); se hace la comparación con un vaso de grado 0 de un animal tratado con PK10453 (D8). Ver la Figura 8B. Un ejemplo de una lesión de grado 2 teñida para fosfo-PDGFRbeta se muestra en la Figura 8C en comparación con una lesión de grado 0 de un animal tratado con PK10453 (D8) (modelo MCT+ PN) en la Figura 8D. La tinción para fosfoPDGFRbeta mostró una señal intensa en un patrón de adoquines en las lesiones de grado 2.

50 Se muestran otros ejemplos de hipertrofia de arteriola pulmonar y lesiones proliferativas celulares intraluminales como se describió, mientras que el análisis cuantitativo se representa en la Figura 9. La relación del área del lumen al área del medio (L/M) fue significativamente mayor en los grupos tratados con PK10453 en comparación con el vehículo, donde la dosis más alta, D8 ($n=4$) L/M $1,17 \pm 0,07$, la dosis más baja, D4 L/M $0,75 \pm 0,14$, y el control de vehículo V ($n=6$): $0,36 \pm 0,09$ ($p=0,032$ D4 frente a V; $p=0,00014$ D8 frente a V; $p=0,028$ D8 frente a D4). El marcador de células endoteliales, vWF, mostró señal predominantemente dentro de las arteriolas pulmonares. El anticuerpo tirosina705 fosfoSTAT3 mostró localización de pSTAT3 en los núcleos de células endoteliales y células perivasculares. Ver las Figuras 10 A; y la Figura 10B (con tratamiento con PK10453).

60 Tricrómica e inmunohistoquímica para alfa-SMC actina y vWF. El marcador de células endoteliales, vWF, mostró señal predominantemente dentro de las arteriolas pulmonares. Y se realizó inmunohistoquímica para SMC vasculares (α SMC actina), marcadores de células endoteliales (vWF) y tinciones tricrómicas de arteriolas pulmonares en MCT+PN en ratas para caracterizar aún más las lesiones de grado 0, 1 y 2. Las lesiones de grado 0 se caracterizaron por una proliferación neointimal (intraluminal) temprana de células endoteliales (EC) con preservación de las SMC vasculares en el medio; lesiones de grado 1-2, por proliferación/invasión neointimal (intraluminal) de células mixtas similares a miofibroblastos (MF) y EC con pérdida parcial de células del músculo liso vascular en la capa medial; y lesiones avanzadas de grado 2, por proliferación intraluminal extensa de MF/EC con pérdida completa de células VSM en la capa medial y reemplazo fibrótico de la media. Ver las Figuras 11A-I.

Ejemplo de referencia 5 - Inmunohistoquímica para la señalización de PDGF

5 En las arteriolas pulmonares precapilares la señalización a través de la vía de PDGFR-β fue dominante. La señal para el ligando PDGFAA y PDGFR-α estuvo presente pero cualitativamente más baja que la señal para PDGFBB y PDGFR-β. El PDGFR-β fosforilado (pPDGFR-β) tenía una apariencia de adoquín en las células neointimales y en las células perivasculares y fue más fuerte que la señal del fosfo-PDGFR-α (PDGFR-α) en las arteriolas pulmonares precapilares. Se detectó una señal mínima para pPDGFR-β o alfa en las capas mediales de las arteriolas pulmonares precapilares. Ver las Figuras 12A-F. En vasos más grandes ($>50 \mu\text{m}$), la señal para pPDGFR-α estuvo presente en las células VSM mediales. Por el contrario, la señal de la capa medial para pPDGFRβ fue baja. Ver las Figuras 13A-D.

Ejemplo de referencia 6 - Inmunoensayos NanoPro® y transferencias Western

15 Los inmunoensayos Nanopro® para pAKT/AKT se muestran en la Figura 14 y para pSTAT3/STAT3 se muestran en la Figura 15. Hubo una reducción significativa en la relación pSTAT3/STAT3 en los grupos D4 y D8 en comparación con el vehículo. La Figura La Figura 16 muestra el efecto de PK10453 inhalado (Estructura 2) sobre ppERK1/ERK1, pERK1/ERK1, ppERK2/ERK2 y pERK2/ERK2 en homogeneizados de pulmón. Hubo reducciones significativas en ppERK1/ERK1 y pERK1/ERK1 en los grupos D4 y D8, respectivamente, en comparación con el vehículo.

20 Ejemplo 7: PDGFAA estimula PDGFR-α, mientras que PDGFBB se une y activa PDGFR-β.

25 La Figura 17 muestra el efecto de imatinib (compuesto de referencia), PK10453 (Estructura 2) (compuesto de referencia) y PK10571 (Estructura 2a) sobre la fosforilación estimulada por PDGFAA frente a PDGFBB de ERK1 y ERK2 en fibroblastos de pulmón fetal humano. La relación de ERK1 difosforilada a ERK1 total (ppERK1/ERK1) aumentó con la estimulación con PDGFAA o PDGFBB y disminuyó significativamente con concentraciones de imatinib, PK10453 y PK10571 de 1 μM y 10 μM . La relación de ERK2 difosforilada a ERK2 total (ppERK2/ERK2) aumentó con la estimulación con PDGFAA o PDGFBB (10 ng/mL) y disminuyó significativamente con concentraciones de imatinib, PK10453 y PK10571 de 1 μM y 10 μM . Después de la estimulación con PDGF BB, la relación de ERK1 difosforilada a ERK1 total (ppERK1/ERK1) y de ERK2 difosforilada a ERK2 total (ppERK2/ERK2) disminuyó de manera más efectiva con 1 μM de PK10453 y PK10571 en comparación con imatinib. Por lo tanto, PK10453 y PK10571 son inhibidores más potentes de la fosforilación de ERK1 y ERK2 estimulada por PDGF BB en comparación con imatinib.

35 En particular, y con referencia a la Figura 17A-D, como se señaló anteriormente, la estimulación con PDGFAA y PDGF BB (10 ng/mL) de fibroblastos de pulmón fetal humano aumentó ppERK1/ERK1 y ppERK2/ERK en comparación con los controles (SF) de medio libre de suero únicamente. Imatinib, PK10453 (Estructura 2) y PK10571 (Estructura 2a) fueron igualmente efectivos a 1 μM para disminuir la formación de ppERK1 y ppERK2 estimulada por PDGF AA (Figura 17A y C). Sin embargo, PK10453 y PK10571 fueron más efectivos a 1 μM y 10 μM para disminuir ppERK1 y ppERK2 estimuladas por PDGF BB (Figura 17B y D). Estos datos demuestran que PK10453 y PK10571 son más efectivos para bloquear la transducción de señales a través del receptor beta de PDGF en comparación con imatinib. Los datos se muestran como media + SEM. El efecto diferencial de PK10453 y PK10571 fue más prominente en el bloqueo de la fosforilación de ERK1 frente a la de ERK2. A 1 μM , imatinib no tuvo efecto sobre la inhibición de la formación de ppERK1, mientras que PK10453 y PK10571 a 1 μM fueron efectivos para disminuir la formación de ppERK1 estimulada por PDGFBB. PK10453=estructura 2; PK10571=estructura 2a. Receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas = PDGFR-alfa = PDGFR-α = receptor alfa de PDGF = receptor de PDGF alfa. Receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas =PDGFR-beta=PDGFR-β=receptor beta de PDGF =receptor de PDGF beta.

50 Ejemplos: PK10453 (Estructura 2) (compuesto de referencia), PK10467 (Estructura 3) (compuesto de referencia), PK10468 (Estructura 4) (compuesto de referencia), PK10569 (Estructura 5) (compuesto de referencia) y PK10571 (Estructura 2a) poseen concentraciones IC₅₀ inferiores comparadas con imatinib (compuesto de referencia) para inhibir la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB en fibroblastos.

55 Los fibroblastos de pulmón humano fetal cultivados en cultivo celular se usan como modelo de proliferación de fibroblastos que se produce en la hipertensión arterial pulmonar, la fibrosis pulmonar y trastornos relacionados. Ver la Figura 18A-D. Estos datos resaltan que PK10453, PK10467, PK10468, PK10569 y PK10571 son inhibidores más potentes de la transducción de señales mediada por el receptor PDGF beta en comparación con imatinib. Estos datos muestran la importancia de la inhibición efectiva de la señalización del receptor PDGF beta además de la señalización del receptor PDGF alfa como tratamiento para la hipertensión arterial pulmonar, la fibrosis pulmonar y los trastornos relacionados que se pueden lograr con PK10453, PK10467, PK10468, PK10569 y PK10571. Como se usó anteriormente y en toda la solicitud, los compuestos PK y las designaciones de estructura se usan indistintamente, como sigue: PK10453 = Estructura 2; PK10571 = Estructura 2a; PK10467 = Estructura 3; PK10468 = Estructura 4; y PK10569 = Estructura 5. Ver la Figura 18A-D.

65 Ejemplo de referencia 9 - Pesos corporales, presión sanguínea sistémica y estudios de plethysmografía

En comparación con el vehículo, hubo una tendencia a una tasa más lenta de disminución del peso corporal en los grupos tratados frente a los de vehículo. Ver la Figura 19. El día siete de tratamiento, la presión sanguínea sistólica fue 111 ± 21 mmHg en el grupo de vehículo MCT ($n=3$) en comparación con 131 ± 10 mmHg en el grupo de MCT PK10453 ($n=3$), como se muestra en la Figura 20. La plethysmografía de dos cámaras se midió el día 1 y el día 15 de la administración de PK10453/vehículo en el modelo MCT+ PNMCT+PN en ratas. Los resultados se muestran en la Tabla 4. El tratamiento con PK10453 se asoció con una disminución más lenta de la ventilación minuto (VM) y una mejora significativa en el flujo inspiratorio máximo (PIF) y el flujo espiratorio máximo (PEF) en el grupo de exposición de 4 min (D4) en comparación con el vehículo.

Tabla 4

		Dia 1						Dia 15					
		PIF	PEF	TV (ml)	MV (ml/min)	f	SRaw	PIF	PEF	TV	MV	f	SRaw
V (n=6)	media	8,81	9,68	0,86	193,66	244,79	40,37	4,97	5,86	0,52	107,59	214,43	38,93
	sem	0,79	0,98	0,14	20,66	28,02	4,11	0,39	0,44	0,07	9,58	13,83	6,53
D4 (n=5)	media	9,82	11,04	1,00	223,24	224,68	39,73	7,82*	9,33*	0,85	176,128	217,12	33,09
	sem	0,70	0,56	0,07	11,99	9,87	3,33	0,34	0,67	0,12	14,53	18,64	4,80
D8 (n=5)	media	8,54	9,43	0,74	174,68	259,13	36,01	6,06	6,64	0,63	128,49	232,11	49,26
	sem	0,72	1,01	0,15	22,32	26,42	3,82	0,84	0,99	0,16	19,47	30,71	7,11

Abreviaturas: PIF: flujo inspiratorio máximo; PEF: flujo espiratorio máximo; TV: volumen corriente; MV: volumen máximo; f: frecuencia respiratoria (respiraciones por minuto); SRaw: resistencia de las vías respiratorias *p<0,01 D4 frente a V; §p=0,02 D4 frente a V.

Ejemplo de referencia 10 - Discusión y modalidades aplicadas

Se ha descubierto que la vía de señalización del PDGF se activa en la hipertensión arterial pulmonar (PAH) humana y en modelos animales de la enfermedad. Este estudio probó la hipótesis de que un nuevo inhibidor no selectivo del receptor de PDGF inhalado, PK10453 (Estructura 2), disminuiría la hipertensión pulmonar tanto en el modelo monocrotalino (MCT) en ratas como en el modelo de PAH MCT más neumonectomía (+PN)en ratas. PK10453 administrado por inhalación, durante cuatro (D4) y ocho (D8) exposiciones mínimas tres veces al día durante dos semanas, disminuyó la presión sistólica del ventrículo derecho (RVSP) en los modelos MCT en ratas y MCT+PN en ratas: PSVD del grupo de MCT de vehículo ($n = 6$) fue $80,4 \pm 2,6$ mm Hg; en el grupo D4 MCT ($n=6$), $44,4 \pm 5,8$ mm Hg; y en el grupo D8 MCT ($n=5$), $37,1 \pm 4,5$ mm Hg ($p<0,001$ frente a vehículo); en el grupo de vehículo MCT+PN ($n=9$) la RVSP fue $75,7 \pm 7,1$ mm Hg; en el grupo D4 MCT+PN ($n=10$), $40,4 \pm 2,7$ mm Hg, y en el grupo D8 MCT +PN ($n=8$), $43,0 \pm 3,0$ mm Hg ($p<0,001$). En el modelo MCT+PN en ratas, la monitorización telemétrica continua de las presiones de la arteria pulmonar también demostró que PK10453 previno la progresión de la PAH. Imatinib administrado por inhalación fue igualmente efectivo en el modelo MCT, pero no fue efectivo en el modelo MCT+PN.

La inmunohistoquímica demostró una mayor activación del receptor PDGF β en comparación con el receptor PDGF α en lesiones neointimales y perivasculares encontradas en el modelo MCT+PN. Se demostró que imatinib es selectivo para el receptor PDGF α mientras que PK10453 tiene una IC₅₀ más baja para la inhibición de la actividad cinasa de los receptores PDGF α y PDGF β en comparación con imatinib. PK10453 disminuyó la relación de AKT fosforilada (Ser473) a AKT total, STAT3 fosforilada (Y705) a STAT3 total, la relación de ERK1 difosforilada a ERK1 total y la relación de ERK1 monofosforilada a ERK1 total en extractos de pulmón de animales MCT+PN. En resumen, PK10453, cuando se administra por inhalación, disminuyó significativamente la progresión de la PAH en los modelos MCT y MCT+PN en ratas. Por lo tanto, la inhibición no selectiva de los receptores PDGF α y PDGF β tiene una ventaja terapéutica sobre la inhibición selectiva de PDGFR α al menos en la PAH y enfermedades relacionadas.

En consecuencia, y por primera vez, se ha demostrado que un nuevo inhibidor no selectivo del receptor de PDGF, PK10453 (Estructura 2), cuando se administra por inhalación, disminuyó la gravedad de la PAH en dos modelos animales de la enfermedad: el modelo MCT en ratas y el MCT+PN en ratas. Como tal, debido a que PK10453 es muy potente contra los receptores PDGFR α y PDGFR β , mientras que imatinib es selectivo para el receptor PDGFR α , PK10453 posee una eficacia sorprendentemente superior. Tanto PK10453 como imatinib fueron efectivos en el modelo MCT en ratas, pero solo PK10453 disminuyó la hipertensión pulmonar en el modelo MCT+PN en ratas cuando se administró por inhalación. Una razón para este efecto diferencial se puede deber a la hiperactivación de la señalización a través del receptor PDGFR β en lesiones neointimales de la arteriola pulmonar precapilar en comparación con el receptor PDGFR α en el modelo MCT+PN en ratas.

En consecuencia, los datos presentes demuestran que un nuevo inhibidor no selectivo del receptor de PDGF, PK10453 (Estructura 2), cuando se administra por inhalación, previno la progresión de la PAH en los modelos MCT en ratas y MCT+PN en ratas. Es de destacar que este es el primer estudio que informa la eficacia de la inhibición del receptor de PDGF en el modelo MCT+PN en ratas. También se encontró una reducción sostenida de la presión de la AP en animales ambulatorios con PAH (MCT+PN) tratados con PK10453. Concomitantemente con una reducción significativa de la presión sistólica de la AP y del VD en estos modelos, se demostró una reducción de la hipertrofia del VD y una mejora en la relación lumen a medio de las arteriolas pulmonares. Los lazos de presión volumen mostraron una mejora en la fracción de eyeción del VD, un mayor gasto cardíaco y una tendencia hacia un menor trabajo sistólico en los animales tratados con PK10453 en comparación con los animales de control. En extractos de pulmón de animales tratados con PK10453, hubo una reducción significativa en las relaciones pAKT(Ser473)/AKT, pSTAT3/STAT3, ppERK1/ERK1 y pERK1/ERK1.

Debido a que la PAH es una enfermedad sustancialmente localizada en el pulmón, se probó la hipótesis de que la administración directa del fármaco al sitio diana mediante inhalación ofrecería la ventaja de concentraciones locales más altas (mayor eficacia) y concentraciones sistémicas más bajas del fármaco (efectos secundarios más bajos). Los estudios farmacocinéticos demostraron una ventaja de 45 veces la administración por inhalación en comparación con la administración intravenosa de PK10453 (Estructura 2). Si bien PK10453 disminuyó la presión sistólica del VD en un 50 % en el modelo MCT en ratas, no tuvo un efecto adverso sobre la AP sistémica. Además, PK10453 inhalado no afectó negativamente la función pulmonar durante un ciclo de 2 semanas.

En el modelo MCT en ratas, el presente inventor comparó PK10453 inhalado con el imatinib inhalado y descubrió que ambos eran igualmente efectivos. Estos resultados son consistentes con informes anteriores de que el inhibidor del receptor de PDGF imatinib, cuando se administra sistémicamente, disminuyó la hipertensión pulmonar en el modelo MCT en ratas. Ver documento Schermuly y otros, "Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition." J Clin Invest; 115:2811-21 (2005). Sin embargo, en el modelo MCT+PN en ratas, aunque PK10453 inhalado fue efectivo para reducir la presión pulmonar, el imatinib inhalado no lo fue. El modelo MCT+PN en ratas es un modelo más agresivo de PAH en comparación con el modelo solo MCT y puede reflejar con mayor precisión la patología de la enfermedad humana. Documento White y otros, "Plexiform-like lesions and increased tissue factor expression in a rat model of severe pulmonary arterial hypertension." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol; 293:L583-90 (2007). La medición in vitro de IC₅₀ para la inhibición de los receptores PDGF- α y - β mostró que PK10453 fue

más potente que imatinib contra ambas isoformas, y que imatinib es sólo un modesto inhibidor de la isoforma PDGFR β . La inmunohistoquímica demostró que las lesiones neointimales en el modelo MCT+PN en ratas tienen altos niveles de fosfoPDGFR β , con menos pPDGFR α . Estos hallazgos explican por qué la inhibición no selectiva de PDGFR β y PDGFR α proporcionó una ventaja terapéutica sobre la inhibición selectiva de PDGFR α .

5 Los datos actuales son consistentes con el documento Panzhinskiy y otros, "Hypoxia induces unique proliferative response in adventitial fibroblasts by activating PDGfbeta receptor-JNK1 signaling." *Cardiovasc Res*; 95:356-65 (2012), para el modelo de ternero neonatal de hipertensión pulmonar inducida por gran altitud. En ese modelo se demostró una proliferación perivasicular extensa de fibroblastos adventiciales junto con la activación de pPDGFR β .
10 Estas lesiones son similares al patrón observado en el modelo MCT+PN en ratas para los presentes estudios. Estos hallazgos también son consistentes con los informados para la PAH humana. Documento Perros y otros, "Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension." *Am J Respir Crit Care Med*; 178:81-8 (2008), que describe la distribución de PDGFA, PDGFB, PDGFR α , PDGFR β y pPDGFR β en lesiones arteriales pulmonares de pacientes con PAH. La expresión de PDGFR α se encontró principalmente dentro de la capa medial muscular de arteriolas pulmonares hipertrofiadas, mientras que PDGFR β y pPDGFR β fueron dominantes en las células endoteliales de lesiones plexiformes.

15 La selectividad de imatinib para PDGFR α no se había enfatizado previamente en estudios de PAH. Se informó que la inhibición por imatinib de la fosforilación de PDGFR α estimulada por PDGFAA fue 0,1 μ M; mientras que la inhibición de PDGFBB estimuló la fosforilación de PDGFR β a 0,38 μ M. Ver, por ejemplo, el documento Deininger y otros, "The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia." *Blood*, 105:2640-53 (2005). Aquí, sin embargo, se determinó que, en [ATP]Km(app), imatinib fue 10 veces más selectivo para PDGFR α en comparación con el receptor beta (IC_{50} contra PDGFR α 71 nM frente a 607 nM para PDGFR β). La mayoría de los estudios basados en células relacionados con la PAH que interrogan la vía del PDGFR emplearon dosis altas de imatinib (5-10 μ M) y, por lo tanto, excluyen la distinción entre la inhibición del receptor PDGFR α y β .

20 Wu y otros, en el documento "Comprehensive dissection of PDGF-PDGFR signaling pathways in PDGFR genetically defined cells." *PLoS One*; 3:e3794 (2008), examinaron la señalización de PDGFR en fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) genéticamente definidos. Los MEF se diseñaron para expresar solo el receptor PDGFR α , PDGFR β , ambos o ninguno. Se encontró que la señalización a través del receptor PDGFR α y el receptor PDGFR β tenía vías compartidas y distintas. Treinta y tres conjuntos de genes fueron activados claramente por PDGFR α y 15 por PDGFR β . Los heterodímeros PDGFR α/β activaron componentes de la señalización de NFkB e IL-6. Las vías de flujo de calcio estuvieron reguladas tanto por PDGFR α como por PDGFR β . La señalización implicada en la angiogénesis se reguló únicamente a través de la vía del PDGFR β . Este hallazgo concuerda con el aumento selectivo de fosfoPDGFR β encontrado en las lesiones neointimales de las arteriolas pulmonares precapilares mediante el uso del modelo MCT+PN.

25 Se ha encontrado que PDGFBB induce la fosforilación de AKT en Ser473 en fibroblastos y células del músculo liso de la arteria pulmonar, pero no en las células endoteliales de la arteria pulmonar. Ver documento Ogawa y otros, "PDGF enhances store-operated Ca²⁺ entry by upregulating STIM1/Orai1 via activation of Akt/mTOR in human pulmonary arterial smooth muscle cells." *Am J Physiol Cell Physiol*; 302:C405-11 (2012). También se encontró un aumento de la fosforilación de AKT (Ser473) en células con un fenotipo de músculo liso de endarterectomías de pacientes con hipertensión arterial pulmonar tromboembólica crónica. Ver documento Ogawa y otros, "Inhibition of mTOR attenuates store-operated Ca²⁺ entry in cells from endarterectomized tissues of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 297:L666-76 (2009). La estimulación con PDGFBB aumentó la entrada de calcio almacenado a través de la vía AKT/mTOR en estas células. Ver id.

30 Sin embargo, en las células del músculo liso de la arteria pulmonar de ratas control y tratadas con monocrotalina, imatinib (0,1 μ M) disminuyó el suero de ternero fetal y estimuló la fosforilación de Ser473 AKT, pero no tuvo ningún efecto sobre la fosforilación de AKT en Thr30825. A esta concentración, es probable que imatinib actuara a través del receptor PDGFA. Wu y otros (2008) encontraron que STI-571 (imatinib) a 5 μ M bloqueó la fosforilación de AKT estimulada por PDGFB (SER473) en líneas celulares nulas para PDGFR β y nulas para PDGFR α . La presente descripción incluyó un IC₅₀ para examinar la estimulación de PDGFAA y PDGFBB de la fosforilación de AKT (Ser473) y AKT (Thr308) en fibroblastos de pulmón humano fetal. La inhibición de imatinib se comparó con la inhibición de PK10453 de PDGFAA o la fosforilación de AKT estimulada por PDGFB, y se encontró que PK10453 fue más potente.

35 Además, se emplearon inmunoensayos proteómicos nanofluídicos para cuantificar especies fosforiladas de AKT, STAT3 y ERK1/2 en extractos de pulmón de animales MCT+PN. Se encontró una reducción significativa de fosfo-AKT (Ser473), fosfo-STAT3 y ppERK1/ERK y pERK1/ERK1 en los grupos tratados con PK10453 en comparación con el vehículo. Schermuly y otros (2008) demostraron una reducción en pERK1/2 por imatinib en el modelo MCT de PAH en ratas. Jasmin y otros, en el documento "Short-term administration of a cell-permeable caveolin-1 peptide prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy." *Circulation*; 114:912-20 (2006), han demostrado la activación de STAT3 en el modelo MCT en ratas, y Masri y otros, en el documento "Hyperproliferative apoptosis-resistant endothelial cells in idiopathic pulmonary arterial hypertension." *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 293:L548-54 (2007), encontraron que STAT3 se activaba en la

PAH idiopática humana. Los inmunoensayos proteómicos nanofluídicos de la presente descripción se usaron previamente para examinar los efectos de imatinib en pSTAT3 y pERK1/2 en la leucemia mielógena crónica (CML). Ver documento Fan y otros, "Nanofluidic proteomic assay for serial analysis of oncoprotein activation in clinical specimens." Nature medicine; 15:566-71 (2009). Este ensayo tiene utilidad para distinguir isoformas monofosforiladas e isoformas difosforiladas de proteínas. Por ejemplo, los pacientes con leucemia mieloide crónica que respondieron al imatinib tuvieron una clara reducción en los niveles de ERK214 monofosforilado. Aquí, la isoforma ERK1 y tanto la forma difosforilada de ERK1 como la forma monofosforilada de ERK1 predominaron en los pulmones de ratas neumonectomizadas con MCT. El tratamiento con PK10453 disminuyó significativamente ppERK1/ERK y pERK1/ERK1.

Los análisis de oclusión se realizaron de acuerdo con el método de Homma y otros, en el documento "Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in protection against monocrotaline-induced pulmonary hypertension in pneumonectomized rats by dehydroepiandrosterone." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol; 295:L71-8 (2008). En el modelo MCT+PN en ratas, la dosis más alta de PK10453 inhalado se asoció con menos lesiones oclusivas de grado 2. Luego, estas lesiones se caracterizaron mediante inmunohistoquímica con marcadores de células del músculo liso vascular y células endoteliales, y se realizaron tinciones tricrómicas para diferenciar las lesiones musculares de las fibróticas. Se determinó que las lesiones proliferativas neointimales de grado 1-2 contenían miofibroblastos y células endoteliales. En las lesiones avanzadas de grado 2 hubo reemplazo fibrótico del medio del vaso. El origen de los miofibroblastos en estas lesiones no está del todo claro. Se podrían originar por infiltración de fibroblastos o pericitos perivasculares, de células madre circulantes, de células progenitoras residentes o como consecuencia de una transición endotelial-mesenquimatosa. Ver documento Yeager y otros, "Progenitor cells in pulmonary vascular remodeling." Pulm Circ; 1:3-16 (2011). Si bien se detectaron estas lesiones, es razonable proponer que la lesión tipo 1 es una lesión en etapa más temprana que puede progresar a tipo 2 y tipo 3. En este modelo, las células endoteliales intraluminales proliferan, pasan a un fenotipo de miofibroblastos (y/o el lumen es infiltrado por células perivasculares/miofibroblastos) y ocluyen progresivamente el lumen del vaso.

Sakao y otros, en el documento "Reversible or irreversible remodeling in pulmonary arterial hypertension." Am J Respir Cell Mol Biol; 43:629-34 (2010), han resaltado la importancia de distinguir la regresión de la muscularización vascular (remodelación inversa) de la proliferación de células endoteliales potencialmente irreversible en la PAH. Los datos presentados aquí muestran que la señalización a través de la vía del PDGFR α juega un papel importante en la remodelación vascular de arteriolas pulmonares más grandes en la PAH, mientras que la vía del PDGFR β es más importante en las lesiones neointimales proliferativas de las arteriolas pulmonares precapilares. Dirigirse a la vía PDGFR β con un inhibidor de PDGFR que bloquee potentemente esta isoforma (más potente que imatinib) puede influir en la progresión de estas lesiones. Por lo tanto, si tales lesiones se tratan antes del reemplazo fibrótico completo y la regresión vascular, puede existir reversibilidad de estas lesiones.

En conclusión, un inhibidor no selectivo del receptor de PDGF inhalado, PK10453 (Estructura 2), fue efectivo en los modelos MCT y MCT+PN de PAH en ratas. El tratamiento con PK10453 se asoció con una reducción significativa de la presión arterial pulmonar en animales ambulatorios, una mejora de la función ventricular derecha y una reducción de la hipertrofia del VD. El análisis histológico demostró una mejora en la relación lumen a medio de la arteriola pulmonar en animales tratados con PK10453 y una disminución en el estado de fosforilación de AKT (Ser473), STAT3 y ERK1. No hubo ningún efecto significativo de PK10453 (Estructura 2) sobre la presión sanguínea sistémica ni ningún efecto adverso de PK10453 sobre la función pulmonar. A diferencia de imatinib, PK10453 no es selectivo para el receptor PDGFR α , sino que es muy potente contra las isoformas PDGFR α y β . Debido a que la vía del PDGFR β está más activada que la del receptor PDGFR α en lesiones plexiformes de PAH, un inhibidor no selectivo de PDGFR, por ejemplo, PK10453, posee eficacia contra PAH y enfermedades y vías de enfermedades relacionadas.

Ejemplos continuados

Ejemplo A: PK10571 con leucina como excipiente: La solubilidad de PK10571 es 50 mg/mL en EtOH (y una mezcla de EtOH:H₂O hasta 1:1), pero es insoluble en agua a pH neutro. L-Leucina, típicamente es soluble hasta 25-30 mg/mL en agua e insoluble en EtOH; Una serie de experimentos de solubilidad con L-leucina en mezclas de etanolagua encontró que L-leucina precipitó entre 5-10 mg/mL (solución) para una solución de EtOH:H₂O 1:1 v:v a temperatura ambiente. Se obtuvieron mayores concentraciones de leucina, hasta 13 mg/mL con una mezcla EtOH:H₂O 2:1. Dada la solubilidad de PK10571 de 50 mg/mL a 1:1 v:v de EtOH:H₂O, la relación de excipiente leucina a API estará entre 20-40 % en el polvo final. Para maximizar la cantidad de formador de cáscara hidrófoba (leucina) en la superficie, se desea una relación más alta.

Los expertos en la técnica disponen de diversos métodos para fabricar un polvo seco por aspersión que contiene la relación deseada de leucina a PK10571. Un método utiliza un enfoque de mezcla interna en el que el API y el excipiente se proporcionan a la tobera en corrientes de alimentación separadas, una de ETOH y la segunda acuosa. Al variar la velocidad de alimentación relativa y/o las concentraciones de alimentación, se modula la relación de masa de excipiente a API. Otro método utiliza calentamiento y un "arranque en caliente" de manera que la solución que se va a secar por aspersión se calienta para mantener el fármaco y el excipiente en solución. La Tabla 5 muestra los resultados del enfoque de la mezcla interna.

5 Secado por aspersión El secador por aspersión funciona con una temperatura de salida de la cámara diana de 60-70 °C y un nivel de saturación relativa de salida calculado por debajo del 10 % para producir polvo con bajos niveles de solvente residual. El diseño y funcionamiento del atomizador se basan en métodos conocidos por los expertos en la técnica para determinar los tamaños de partículas para el suministro pulmonar. Como se muestra más abajo, la Tabla 5 revela diversas relaciones de PK10571 y Leucina, usadas para generar un polvo seco por aspersión con características inhalables de manera que se puede suministrar una dosis efectiva a un ser humano o animal para tratar una enfermedad que afecta el pulmón y/o la vasculatura pulmonar.

10 Tabla 5. Ejemplos de parámetros usados para API seco por aspersión (PK10571) con Leucina

ID	EtOH ml/min	EtOH g/min	Aqua ml/min	Aqua g/min	EtOH/agua v/v	EtOH/agua masa/ma	Leu mg/ml	C de Leu %TS	Masa Leu g/min
PK01	1	0,79	5	5	0,2	0,158	10	1	0,05
PK02	1,26	0,995	4	4	0,315	0,24875	10	1	0,04
PK03	2,5	1,975	4	4	0,625	0,49375	10	1	0,04
PK04	5	3,95	4	4	1,25	0,9875	10	1	0,04
PK05	1,26	0,995	4	4	0,315	0,24875	20	2	0,08
PK06	2,5	1,975	4	4	0,625	0,49375	20	2	0,08
PK07	5	3,95	4	4	1,25	0,9875	20	2	0,08

ID	API mg/ml	Conc. API % TS	Masa API g/min	Leu/API Relación de masa	EtOH + agua g/min	Solución g/min	Sólidos g/min	Soln g	Salida del polvo objetivo g	Polvo Btach g	API g
PK01	20	2	0,016	3,165	5,79	5,86	0,066	1,1	0,4	0,667	0,16
PK02	20	2	0,02	2,009	4,995	5,055	0,06	1,2	0,4	0,667	0,22
PK03	20	2	0,04	1,013	5,975	6,055	0,08	1,3	0,4	0,667	0,331
PK04	20	2	0,079	0,506	7,95	8,069	0,119	1,5	0,4	0,667	0,443
PK05	20	2	0,02	4,018	4,995	5,095	0,1	2	0,4	0,667	0,133
PK06	20	2	0,04	2,025	5,975	6,095	0,12	2	0,4	0,667	0,22
PK07	20	2	0,079	1,013	7,95	8,109	0,159	2	0,4	0,667	0,331

35 Abreviaturas: EtOH = etanol; Leu=L-leucina; API = ingrediente farmacéutico activo que es PK10571.

40 Para determinar las características del polvo seco por aspersión se usan diversos ensayos. En tal ensayo se realiza el impacto en cascada, que determina el diámetro aerodinámico medio de masa de las partículas de polvo seco por aspersión. La distribución del tamaño de partículas de PK01-PK07 se midió con el impactador en cascada Next Generation Impactor (NGI). La Tabla 6 más abajo muestra los resultados de la impactación en cascada de NGI para polvos secos por aspersión que contienen PK10571 y Leucina.

45 Tabla 6

Muestra ID	T	PS	1	2	3	4	5	6	7	8	MMAD* GSM
PK01	3,35	0	3,299	20,42	12,39	8,37	2,74	2,67	20,57	90,21	NA
PK02	14,4	5,2	11,88	29,35	70,17	70,45	22,2	41,2	21,54	8,8	2,32
PK03	11,83	13,73	13,87	15,06	64,56	195,81	114,82	16,77	14,88	15,04	1,95
PK04	12,22	7,59	11,7	16,67	55,65	147,69	78,49	10,3	9,66	7,75	2,07
PK05	5,99	1,6	2,01	8,67	21,8	50,9	18,96	7,85	7,7	12,8	1,99
PK06	5,17	5,33	5,36	13,99	63,79	32,739	37,7	9,75	21,7	9,6	2,24
PK07	14,22	12,27	12,09	28,54	90,35	128,21	40,052	23,7	19,37	16,14	2,32

55 Abreviaturas: T=garganta; PS=Preseparador; los resultados de las etapas 1-8 se muestran en microgramos de PK10571/mL de solvente usado para disolver las partículas depositadas en cada etapa del NGI. MMAD = diámetro aerodinámico medio de masa y se muestra en micras. GSD=desviación estándar geométrica. La fracción de partículas finas para PK02-PK07 osciló de 81-90 % donde el valor de corte fue < 3 µm.

60 Ejemplo B. PK10571 secado por aspersión con excipientes trehalosa y leucina. En este ejemplo, PK10571 se disuelve a 50 mg/mL en etanol al 50 % junto con 20 mg/mL de trehalosa y 10 mg/mL de L-leucina. La solución se calienta a 40-45 °C, se filtra a través de un filtro de 0,2 micras y se seca por aspersión mientras todavía se calienta a 40-45 °C. PK61014 y PK61914 son designaciones para polvos secos por aspersión, secados por aspersión a partir de una solución de PK10571, trehalosa y leucina en etanol al 50 %. El secado por aspersión se realizó con un secador por aspersión Yamato ADL311S. El régimen de flujo de la solución fue 0,5 mL/min, T de entrada = 110 °C; T de salida=60 °C; se usó gas nitrógeno como gas de secado por aspersión a una presión de 0,3 mPa. Esta técnica

funcionaría con muchos tipos y modelos diferentes de secadores por aspersión, que incluyen un secador por aspersión Buchi, un secador por aspersión NIRO o un secador por aspersión Anhidrol.

5 La impactación en cascada NGI se realizó a un vacío de 60 L/min durante 4 segundos; se usó un inhalador monodosis de polvo seco con una cápsula de HPMC número 3 cargada con 10-20 mg de SDD. Según la impactación en cascada de NGI, el MMAD y el GSD para PK61914 fue $3,3 \pm 1,9$. La dosis emitida fue superior al 90 %. La fracción de partículas finas con un límite de 3 micras fue 63 %. La concentración de PK10571 en los polvos secos por aspersión se midió mediante HPLC MS/MS. Se analizaron los siguientes SDD: PK61014, PK61914, PK62514, PK03, PK04, PK05. Ver más abajo.

10 Materiales y métodos: Pulmokine proporcionó los SDD, el acetonitrilo se obtuvo de Sigma-Aldrich (# de catálogo: 34851-4L, # de lote: SHBD7868V) al igual que el agua: Sigma-Aldrich (# de catálogo: 270733-4L, # de lote: SHBD7051V). También se adquirieron metanol (# de catálogo: 34860-4L-R, # de lote: SHBD4483V) y ácido fórmico de Sigma-Aldrich (# de catálogo: 56302-10X1ML-F, # de lote: BCBM1129V).

15 Métodos analíticos: Los ajustes de ionización son los siguientes: instrumento: AB Sciex 3000 API MS con actualización HSID; ionización: Ionización por electro aspersión (ESI); polaridad: Positiva; tensión de fuente: 5000 V; temperatura: 375 °C; gas de cortina: 10 UA; gas de colisión: 4 UA; gas nebulizador (GS1): 10 UA; y gas de calefacción (GS2): 70 psi.

20 Las condiciones de monitoreo de reacción única incluyeron: transiciones: PK10571 470,0 - 239,2 m/z Potencial de desagrupación (DP): 16 V; potencial de enfoque (FP): 60 V; potencial de entrada (EP): 7,5 V; energía de colisión (CE): 30 V; potencial de salida de célula por colisión (CXP): 22 V; y tiempo de permanencia: 100 ms. Con respecto a las condiciones de HPLC, se empleó una configuración de pila Agilent serie 1100 con un volumen de inyección de 10 µL. La temperatura de la bandeja del muestrador automático se fijó en 20 °C, con un régimen de flujo de 0,3 mL/min. La columna era una Agilent Poroshell 120 SB-C18 de 100 x 2,1 mm (2,7 µM, 120 Å) con columna protectora y filtro en línea, donde el horno de columna estaba a 40 °C. La fase móvil fue A - ácido fórmico al 0,1 % en agua, B - ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo, donde el gradiente se fijó en 0 -3 min, 35 % de B, 3-4 min, 65% de B, 4-4,5 min, 65 % de B, 4,5-4,7 min, 35 % de B, y 4,7-6 min, 35 % de B.

30 Preparación de las muestras: Se prepararon estándares (100, 50, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05 y 0,01 µg/mL) y muestras de control de calidad (17, 7 y 0,7 µg/mL) en metanol a partir de una solución madre de 1 mg/mL de PK10571. Para el análisis de los SDD, se pesó una cantidad adecuada de polvo y se diluyó en metanol para obtener una concentración mensurable dentro del intervalo lineal de la curva estándar. Ver la Figura 21.

35 Análisis de Datos: La estandarización externa se realizó al trazar el área del pico de la transición de PK10571 (470,0 - 239,2 m/z) en función de la concentración (µg/mL). A los estándares se les aplicó una regresión ponderada $1/x^2$ preparada mediante el uso del método de mínimos cuadrados. Los criterios de inclusión para la generación de la curva estándar se definieron como un coeficiente de variación (% de CV) inferior al 15 % y un porcentaje de precisión dentro de ± 15 %, excepto en el límite inferior de cuantificación, donde el % de CV inferior al 20 % y el porcentaje de precisión dentro de ± 20 % fue aceptable. El contenido de API se determinó como un porcentaje en peso del SDD total analizado. Como se muestra más abajo en la Tabla 7, se demostraron datos de linealidad, precisión y exactitud para los calibradores PK10571 (en metanol), donde “**” representa que el límite inferior de cuantificación se determinó en 0,01 µg/mL. Como se muestra en la Tabla 8 más abajo, el análisis de contenido de API para PK10571 se determinó para diversos SDD que se generaron.

Tabla 7				
	Concentración nominal (µg/mL)	Concentración calculada (µg/mL)	% de CV	% de exactitud
	0,01*	0,010	3,01	100
	0,05	0,046	6,54	92
	0,1	0,115	2,33	115
	0,5	0,477	1,80	95
	1	1,01	1,21	101
	5	4,62	2,74	92
	10	11,0	0,96	110
	50	51,9	0,76	104
	100	90,4	0,93	90

Tabla 8	
Muestra	Contenido de API (% p/p) \pm DE
PK61014	55,45 \pm 0,84
PK61914	56,43 \pm 0,29
PK62514	61,73 \pm 0,32
PK03	45,27 \pm 0,48
PK04	52,31 \pm 1,20

PK05	$33,36 \pm 0,30$
PK011	$12,94 \pm 0,25$
PK012	$33,88 \pm 0,45$

5 Se usó un análisis calorimétrico de barrido diferencial modulado para medir la temperatura de transición vítrea de los SDD que contienen PK10571 y leucina, y de los SDD que contienen PK10571/trehalosa/leucina.

10 La DSC modulada (MDSC) se realizó mediante el uso de un calorímetro de barrido diferencial TA Instruments Q100 equipado con un sistema de enfriamiento refrigerado (RCS). El gas de purga fue 50 mL/min de nitrógeno. Se pesaron aproximadamente 3-5 mg de material en un recipiente hermético de aluminio y se cerró herméticamente la tapa. Las muestras se enfriaron a -90 °C y luego se calentaron a 300 °C. Las muestras se procesaron mediante el uso de MDSC convencional con un período de 60 segundos, una amplitud de $\pm 1,5$ °C y una velocidad de calentamiento de 2 °C/min. Los datos se analizaron mediante el uso del software TA Instruments Universal Analysis. Como se muestra más abajo en la Tabla 9, se analizaron las temperaturas de transición vítrea de los SDD que contienen PK10571/leucina o PK10571/leucina/trehalosa, donde la temperatura de transición única indica un SDD homogéneo y estable. Ver la Figura 22 para un ejemplo de MDSC para PK04 que muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) a 101 °C. Las Figuras 23 y 24 muestran respectivamente: micrografías electrónicas de barrido (SEM) de PK004 SDD que contiene PK10571 y L-leucina, donde la morfología es la de esferas con hoyuelos (Figura 23); y un SEM de PK61914 SDD que contiene PK10571/trehalosa/leucina, donde la morfología es la de esferas onduladas/estriadas (Figura 24).

Tabla 9	
Muestra	T_g (°C)
PK03 Leu/API	103
PK04 Leu/API	101
PK05 Leu/API	105
PK61914 API/TRE:LEU	110

30 La Figura 25 muestra ejemplos de uso de un polvo seco por aspersión que consiste de PK10571 y excipiente leucina con o sin trehalosa para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, donde la IC50 contra los dominios PDGFR alfa frente a beta cinasa, como se analiza más detalladamente en la presente descripción. Como se muestra en la Figura 25, además, PK10453 y 10571 son más potentes que imatinib contra la isoforma beta, donde PK10571 es potente contra las isoformas PDGFR alfa y PDGFR beta. La Figura 26 muestra pAKT estimulada por PDGF BB en fibroblastos de pulmón humano. Cada ensayo, cada concentración, se realiza por duplicado. PK10453 IC50 0,15 μ M. PK10571 IC50 0,05 μ M. Como mostramos en nuestra publicación reciente en Pulmonary Circulation, la IC50 para la inhibición de la fosforilación de AKT estimulada por PDGFBB por imatinib fue 1,8 μ M.¹⁶

40 Eficacia preclínica. Realizamos un estudio de eficacia preclínica de PK10571 inhalado en el modelo MCT+PN en ratas. Usamos el modelo MCT+PN, porque en este modelo, las lesiones proliferativas de la arteriola pulmonar neointimal ocurren de una manera similar a lo que se observa en la enfermedad humana. En este experimento, el tratamiento farmacológico se inició más tarde que en estudios anteriores de PK10453.

45 En estudios anteriores, se inició PK10453 2 semanas después de la inyección de MCT (3 semanas después de la neumonectomía). En el estudio de PK10571 SDD, el tratamiento se inició 3 semanas después de la inyección de MCT (4 semanas después de la neumonectomía). Se debe señalar que las ratas neumonectomizadas que reciben MCT desarrollan PAH grave a partir de dos semanas después de la inyección de MCT. (En ratas solo MCT, la PAH tarda más en desarrollarse (es decir, 3 semanas)). El transcurso del tiempo durante el cual se desarrolla la hipertensión pulmonar en el modelo MCT+PN se compara con el modelo solo MCT en la Figura 27, que muestra un transcurso temporal durante el cual se desarrolla la hipertensión pulmonar en el modelo MCT+PN en comparación con el modelo solo MCT. A. Tiempo de estudio del tratamiento farmacológico con PK10453 iniciado (Ver Pulm Circ 2014 8(1):82-102). B. Tiempo de estudio del tratamiento con PK10571 SDD iniciado en el modelo MCT+PN. C. Hora de inicio típica para el modelo solo MCT. Datos adquiridos mediante monitoreo por telemetría de las presiones de la AP en ratas ambulatorias. (Nota: No se muestran los datos del día 11 en el modelo MCT+PN). Ver la Figura 27.

55 Diseño y desempeño del estudio de PK10571 en el modelo MCT+PN. Se administró polvo seco de PK10571 con leucina y excipiente de trehalosa solo por inhalación nasal durante 30 minutos (en promedio) dos veces al día a las ratas, a través de un generador de polvo seco Vilnius conectado a una torre de exposición CH Technologies. La dosis promedio estimada del API depositado en los pulmones 0,25 mg/kg (calculada a partir de la medición de la concentración de aerosol y la ventilación minuto de rata neumonectomizada) con una dosis equivalente humana estimada (HED) de 0,04 mg/kg. El modelo MCT+PN en ratas es un modelo muy agresivo de PAH y los animales tratados con vehículo mostraron una alta mortalidad. El modo de muerte de estos animales no se ha caracterizado completamente, pero puede estar relacionado con una falla del VD. Hemos observado que, aunque la presión pulmonar aumenta gradualmente y progresivamente durante un período de dos semanas después de la inyección de MCT, en la tercera semana los animales pueden entrar en una fase de "crisis" y morir repentinamente. Hubo una disminución significativa con el tiempo de las presiones de la AP en el grupo tratado con PK10571 inhalado

(reducción del 22 % el día 8 en comparación con el día 1; reducción del 35 % el día 8 frente al día 3 dentro del grupo de tratamiento). Este hallazgo confirma el potencial modificador de la enfermedad de PK10571. Un animal en el grupo de tratamiento farmacológico fue sacrificado para perder peso el día 5 según nuestros criterios preestablecidos. Ver la Figura 28.

Estos datos muestran que PK10571 formulado como un polvo seco que contiene leucina y trehalosa fue efectivo para reducir la presión de la arteria pulmonar en animales con PAH muy grave en un modelo animal agresivo de la enfermedad, y sugiere un beneficio de supervivencia en este modelo. Ver la Figura 28. PK10571 también se puede formular como un polvo seco que contiene leucina sin trehalosa. En resumen, la Figura 28 muestra una reducción de la presión de la AP con el tiempo en ratas MCT+PN tratadas con el grupo tratado con PK10571 inhalado (n=5). Datos de presión de los implantes de telemetría PAC40 en la AP. El grupo de vehículo fue n=7 pero 4 animales de vehículo murieron entre los días 2 y 4 de tratamiento. Ver texto para más detalles. Los datos mostrados son la media ±SE. *p≤0,05 ANOVA de medidas repetidas (nota: día 1 PK10571 frente a vehículo p=NS); Se perdieron algunos archivos de datos del día 6 para el grupo de fármaco, excepto para 1 animal, por lo que este punto de datos no se pudo usar para el análisis. (Día 1 de tratamiento = Día 21 después del MCT; Día 31 después de la neumonectomía). Ver la Figura 28.

El ejemplo C que muestra a PK10571 secado por aspersión con DSPC: aquí, PK011 consistió de PK1057EDSPC en una relación 1:5 con 1,5 % de sólidos totales en etanol, mientras que PK012 consistió de PK1057EDSPC: Cloruro de calcio. La Tabla 10 más abajo muestra el contenido de API de PK10571 secado por aspersión con excipiente DSPC, que se midió mediante HPLC MS/MS y se realizó por triplicado (PK011S7=PK011; PK012S8=PK012). La Tabla 11 describe el MMAD de PK10571 secado por aspersión con DSPC como excipiente. El MMAD se determinó al medir la concentración de API mediante espectroscopía UV en cada etapa de un impactador en cascada NGI, donde el flujo de aire fue de 60 L/min durante 4 segundos. Sección resaltada solo para énfasis.

Tabla 10

ID	Medida	Dilución	Conc.(ug/mL)	Solvente D	Inicio A	Inicio A	Inicio B	%PK10571	SD	% de CV
PK011S7										
T1	13,9	10	139	3	417	0,417	3,2	13,03125		
T2	14	10	140	3	420	0,42	3,2	13,125		
T3	13,5	10	135	3	405	0,405	3,2	12,65625		
Media	13,8							12,9375	0,248039	1,917211
PK012S8										
T1	37,6	10	376	3	1128	1,128	3,3	34,18182		
T2	37,5	10	375	3	1125	1,125	3,3	34,09091		
T3	36,7	10	367	3	1101	1,101	3,3	33,36364		
Media	37,27							33,87879	0,448444	1,323672

Tabla 11

ID	T	PS	1	2	3	4	5	6	7	8	MMAD	GSD
PK011	24,859	30,548	10,617	57,727	134,412	197,596	76,294	11,727	0	0	2,55	1,6
PK012	48,511	503,247	32,087	16,325	22,949	41,634	30,119	8,999	0	0	2,66	2,06

En animales PK10571 también comparamos la presión sistólica de la AP antes y después de la dosis (aproximadamente 1 hora después de la dosis) (Figura 29). Como se muestra en la Figura 29, PK10571 en el modelo MCT+PN: antes y después de la dosis (aproximadamente 1 hora). Datos mostrados para el tratamiento del día 1-6. Se observó una disminución transitoria en la presión sistólica de la arteria pulmonar después de la dosis en la etapa inicial del tratamiento (es decir, hasta el día 4), aunque este efecto transitorio de la dosis pareció disminuir más adelante en el tratamiento mientras que la presión sistólica general de la AP disminuyó. Estos datos sugieren efectos vasodilatadores y antiproliferativos de PK10571, estos últimos son probablemente los más importantes.

Ejemplo D - Eficacia de PK10571 en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH. El modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH está bien descrito en el campo y se considera que refleja con precisión la enfermedad humana de PAH y predice la respuesta a los fármacos en humanos²⁵. A los animales del estudio se les administró SU5416 20 mg/kg SQ y se colocaron en una cámara de hipoxia COY a FiO₂ = 10 %. Los animales se estudiaron después de 1 semana de hipoxia; 2 semanas de hipoxia/12 días de normoxia; 3 semanas de hipoxia/12 días de normoxia; y 3 semanas de hipoxia/5 semanas de normoxia. Los procedimientos del estudio finales incluyeron la adquisición de lazos de presión volumen del ventrículo derecho con un sistema de admisión Scisense. Los lazos de PV del VD se adquirieron en animales ventilados con tórax abierto con anestesia con isoflurano y FiO₂ al 100 %. Además, a un subconjunto de animales se les implantaron catéteres de telemetría DSI PAC40 en la AP. En este subconjunto, las presiones de la AP se monitorearon continuamente en animales

ambulatorios y se realizó un análisis de las presiones de la AP antes y después de la dosificación durante 7 días de dosificación.

Ejemplo E - Eficacia de PK10571 en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH.

El modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH está bien descrito en el campo y se considera que refleja con precisión la enfermedad humana de PAH y predice la respuesta a los fármacos en humanos²⁵. A los animales del estudio se les administró SU5416 20 mg/kg SQ y se colocaron en una cámara de hipoxia COY a FiO₂ = 10 %. Los animales se estudiaron después de 1 semana de hipoxia; 2 semanas de hipoxia/12 días de normoxia; 3 semanas de hipoxia/12 días de normoxia; y 3 semanas de hipoxia/5 semanas de normoxia. Los procedimientos del estudio finales incluyeron la adquisición de lazos de presión volumen del ventrículo derecho con un sistema de admisión Scisense. Los lazos de PV del VD se adquirieron en animales ventilados con tórax abierto con anestesia con isoflurano y FiO₂ al 100 %. Además, a un subconjunto de animales se les implantaron catéteres de telemetría DS1 PAC40 en la AP. En este subconjunto, las presiones de la AP se monitorearon continuamente en animales ambulatorios y se realizó un análisis de las presiones de la AP antes y después de la dosificación durante 7 días de dosificación. Ver las Figuras 30-31.

Régimen de tratamiento. El polvo seco de PK10571/trehalosa/leucina o vehículo se administró dos veces al día a través del sistema de exposición de CH Technologies, en los subgrupos SUGEN5416/hipoxia de 2 semanas/normoxia de 2 semanas. Los resultados muestran que hubo una reducción significativa en la presión sistólica final del VD después del tratamiento con PK10571 en el grupo tratado (Figura 30). También hubo un efecto pulsátil de PK10571 sobre la presión de la AP en el sentido de que algunos días hubo una disminución significativa en la presión sistólica de la AP después de la dosificación en comparación con antes de la dosificación. Sin embargo, a medida que la presión de la AP bajó con el tiempo, este efecto agudo disminuyó (Figura 31). Estos resultados indican que PK10571 tuvo efectos vasodilatadores agudos, pero más importante aún, un efecto de remodelación inversa/antiproliferativo sostenido.

Como se muestra en la Figura 30, la eficacia de PK10571 inhalado en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH. NL= control normal; H1= SU5416+1 semana de hipoxia; H2/N2=SU5416+ 2 semanas de hipoxia y 12 días de normoxia con vehículo inhalado dos veces al día durante 11 días de normoxia (el vehículo se inició el día 2 de normoxia); H3/N2= SU5416+3 semanas de hipoxia y 2 semanas de normoxia; H2/N2+D= SU5416+2 semanas de hipoxia y 12 días de normoxia y tratamiento con PK10571 inhalado dos veces al día durante 11 días de normoxia. (El tratamiento farmacológico se inició el día 2 de normoxia). PK10571 inhalado produjo una disminución significativa en la presión sistólica final del VD en comparación con los animales tratados con vehículo (H2/N2). No hubo diferencias significativas entre los grupos H2/N2 y H3/N2. Análisis estadístico: ANOVA con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Como se muestra en la Figura 31, SU5416/hipoxia (2 semanas) /normoxia (12 días); las presiones de la AP se monitorearon continuamente en n=3 animales tratados con PK10571 dos veces al día. El tratamiento se inició el día después de su eliminación de la cámara de hipoxia (día 2). En nuestra experiencia, hay una caída inicial en la presión de la AP en las primeras 24 horas después de la eliminación de la cámara de hipoxia y la introducción a la atmósfera normal. Por lo tanto, comenzamos el tratamiento farmacológico el día 2 después de la eliminación de la cámara de hipoxia y continuamos el tratamiento durante 10 días. El día 12, los animales se sometieron a eutanasia y recolección de tejido. Se muestran la presión sistólica de la AP antes de la dosificación diaria (azul) y la presión sistólica de la AP aproximadamente 1 hora después de la dosificación (naranja). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de medidas repetidas y la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. *p<0,0001 día 6,7, 9-12 frente a día 2 y 4. Otras comparaciones significativas: Día 1 frente a 2,4,5-12 p<0,0001; día 5 frente a día 11 p=0,002.

En el modelo SU5416 también examinamos moldes radiopacos de microfil de la circulación arterial pulmonar con microCT y reconstrucción 3D. Los moldes se hicieron después de lavar la circulación pulmonar de las ratas con solución salina heparinizada seguida de nitroprusiato de sodio para vasodilatar al máximo los vasos arteriales pulmonares. Luego se injectó Microfil con una bomba de jeringa a 0,2 mL/min hasta que la AP proximal se ingurgitó y se hizo visible una red de microfil en el pulmón periférico. El tórax fue llenado con solución salina helada hasta que se curó el microfil. Los resultados preliminares se muestran en la Figura 32, que muestra microCT 3D de la vasculatura arterial pulmonar después del tratamiento con nitroprusiato de sodio en el modelo SU5416/hipoxia/normoxia de PAH. Animal tratado con vehículo a la izquierda. Animal tratado con PK10571 a la derecha. Resolución: 20 micras. Parece que hay más ramificaciones de tercera y cuarta generación en el animal tratado con PK10571.

Análisis del ejemplo F para datos de SEM y MDSC: en la Tabla 12 más abajo se muestran las condiciones de secado por aspersión realizadas con un secador por aspersión de mesa Buchi.

Tabla 12

Lote	% de API	Flujo de gas de secado	Temperatura de entrada de la secadora	Temperatura de salida de la secadora	Flujo de la solución de alimentación	Atomizador GLR	Rendimiento del colector	
#	% de TS	% en peso	kg/h	C	C	g/min	peso/peso	%
PK-003	1,2 %	46	23,7	124,0	70,1	5,55	5,3	57,0 %
PK-004	1,3 %	56	23,7	124,0	70,1	6,50	4,5	63,4 %
PK-005	2,3 %	37	23,7	116,0	70,1	4,06	7,9	73,2 %

5 Se preparó un espécimen al distribuir el polvo seco sobre la superficie de un trozo de espécimen cubierto con una lengüeta adhesiva de carbón conductor ultrasuave (EMS # de Cat 77827-12). Luego se recubrió mediante pulverización catódica el trozo revestido con oro/paladio. La obtención de imágenes se realizó mediante el uso de un haz de 20 kV. Ver las Figuras 33 y 35.

10 15 La DSC modulada (MDSC) se realizó mediante el uso de un calorímetro de barrido diferencial TA Instruments Q100 equipado con un sistema de enfriamiento refrigerado (RCS) y se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento operativo estándar de Impact Analytical SOP-THR-011. El gas de purga fue 50 mL/min de nitrógeno. Se pesaron aproximadamente 2 mg de material en un recipiente hermético de aluminio y se cerró herméticamente la tapa. Las muestras se enfriaron a -90 °C y luego se calentaron a 300 °C. Las muestras se procesaron mediante el uso de MDSC convencional con un período de 60 segundos, una amplitud de ± 1,5 °C y una velocidad de calentamiento de 2 °C/min. Los datos se analizaron mediante el uso del software TA Instruments Universal Analysis. Ver la Tabla 13 más abajo y la Figura 34.

20 25 En resumen, la Figura 33 es una micrografía electrónica de barrido de PK10571 secado por aspersión con excipiente de leucina, mientras que la Figura 34 muestra que el diámetro aerodinámico medio de masa se determinó con un impactador en cascada NGL: T= "garganta"; PS= preseparador. 1-8= Etapas del impactador en cascada NGL. MMAD=Diámetro aerodinámico medio de masa; GSD= desviación estándar geométrica. Aquí, PK10571 se secó por aspersión con DSPC, donde la temperatura de transición vítreo observada para PK013 PK10571-DPSC (S142533) fue 67 °C.

30 35 La Figura 35, además, muestra una micrografía electrónica de barrido de PK10571 con excipiente DSPC, mientras que la Figura 36 es un gráfico que muestra la distribución del tamaño de partículas del polvo seco por aspersión de PK10571/DSPC. Impactador en cascada NGL usado a 60 L/min durante 4 segundos. Cápsula de HPMC cargada en inhalador monodosis. MMAD = 2,5 micras GSD 1,6.

40 45 La Figura 37 es un gráfico "GRÁFICO A" que identifica la nomenclatura, estructura y peso molecular (PM) del compuesto, y la Figura 38 es un gráfico que muestra datos de IC50 de los compuestos para PDGFRα. Finalmente, la Figura 39 es un gráfico que muestra datos de IC50 de los compuestos para PDGFRβ, donde: PK105R=PK10571 mezcla racémica; PK105=PK10571; PK19=PK1019; PK23=PK1023; y PK24 = PK 1024.

Tabla 13 Temperaturas de transición vítreo observadas

Muestra	T _g (°C)
PK003 Leu/API 1,2 (S141397)	103
PK004 Leu/API 0,8 (S141398)	101
PK005 Leu/API 1,7 (S141399)	105

50 55 En el ejemplo G PK10571 disminuye la fosforilación del receptor beta del PDGF en fibroblastos de pulmón humano: PK10571 disminuye la fosforilación del receptor beta del PDGF en fibroblastos de pulmón humano, como se muestra en la Figura 40. Aquí, los datos del receptor beta del PDGF fosforilado (pPDGFrBeta) y del receptor beta del PDGF total (PDGFrBeta) se ilustran mediante transferencia Western con fibroblastos de pulmón humanos adultos (HLFa) tratados a diferentes concentraciones de PK10571.

60 65 La Figura 40(A) ilustra pPDGFrBeta (Y751), Beta-Actina, privados y reprobados con PDGFrBeta total; note que se cargaron 25 µg/carril, con una dilución 1:500 del anticuerpo pPDGFrBeta(Y751) durante la incubación. La clave del carril es la siguiente: Std = Escalera estándar de proteínas; +Ctrl = Lisado de HLFa tratado con 10 ng/mL de PDGF BB durante 7,5 minutos; -Ctrl = Lisado de HLFa en medio libre de suero; SF = Lisado de HLFa en medio libre de suero; BB = Lisado de HLFa estimulado con PDGF BB 10 ng/mL durante 7,5 minutos en GM o SF; 10 = Lisado de HLFa pretratado con PK10571 10 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 10 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; 1 = Lisado de HLFa pretratado con PK10571 1 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 1 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; 0,1 = lisado de HLFa pretratado con PK10571 0,1 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 0,1 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; y 0,01 = lisado de HLFa pretratado con PK10571 0,01 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 0,01 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos.

La Figura 40(B) ilustra pPDGFrBeta (Y1021), Beta-Actina, privados y reprobados con PDGFrBeta total; note que se cargaron 25 µg/carril, con una dilución 1:500 del anticuerpo pPDGFrBeta(Y1021) durante la incubación. La clave del carril es la siguiente: Std = Escalera estándar de proteínas; +Ctrl = Lisado de HLFa tratado con 10 ng/mL de PDGF BB durante 7,5 minutos; -Ctrl = Lisado de HLFa en medio libre de suero; SF = Lisado de HLFa en medio libre de suero; BB = Lisado de HLFa estimulado con PDGF BB 10 ng/mL durante 7,5 minutos en GM o SF; 10 = Lisado de HLFa pretratado con PK10571 10 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 10 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; 1 = Lisado de HLFa pretratado con PK10571 1 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 1 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; 0,1 = Lisado de HLFa pretratado con PK10571 0,1 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 0,1 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos; y 0,01 = lisado de HLFa pretratado con PK10571 0,01 uM durante 30 minutos, luego estimulado con PDGF BB 20 ng/mL + PK10571 0,01 uM (concentración final de PDGF BB 10 ng/mL) durante 7,5 minutos.

En el ejemplo H PK10571 suministrado por inhalación como un polvo seco mejoró la función pulmonar en el modelo de monocrotalina más neumonectomía en ratas: El modelo de neumonectomía monocrotalina en ratas es un modelo de hipertensión pulmonar asociada con fibrosis pulmonar. Protocolo del estudio: ratas macho Sprague Dawley se sometieron a neumonectomía izquierda y 10 días después se les administró monocrotalina 50 mg/kg IP. Veintiún días después, se administró PK10571 inhalado dos veces al día durante diez días a través de una torre de exposición por inhalación de CH Technologies con aerosol de polvo seco generado por un generador de polvo seco de Vilnius.

Como se muestra en la Figura 41, PK10571 mejoró significativamente el volumen corriente en comparación con el vehículo. La frecuencia respiratoria fue mayor en los animales tratados con vehículo, lo que compensó la disminución del volumen corriente y, por lo tanto, no hubo diferencias significativas en la ventilación minuto entre los grupos. No hubo diferencias significativas en la resistencia de las vías respiratorias entre los animales tratados con PK10571 y con vehículo (Figura). La pleismografía se realizó con un pleismógrafo corporal de 2 cámaras EMKA y los datos se adquirieron con el software IOX. El análisis estadístico se realizó con XLSTAT. La Figura 41 muestra que se suministró polvo seco de PK10571 por inhalación a ratas Sprague Dawley con hipertensión pulmonar inducida por neumonectomía monocrotalina asociada con fibrosis pulmonar. PK10571 mejoró significativamente el volumen corriente (n=12) frente a los animales tratados con vehículo (n=12); *p=0,006. La frecuencia respiratoria también fue menor en los animales tratados con PK10571 (*p=0,005).

Como se muestra en la Figura 42, tinción tricrómica de secciones de pulmón de un animal tratado con vehículo en comparación con un animal tratado con PK10453 en un modelo de monocrotalina más neumonectomía en ratas. El color azul indica colágeno. Hay menos depósito de colágeno evidente en el animal tratado con PK10453 y la arquitectura alveolar parece normal. La Figura 42 muestra la tinción tricrómica de secciones de pulmón de rata tratada con vehículo con monocrotalina + neumonectomía inducida por fibrosis pulmonar e hipertensión pulmonar (izquierda) frente a rata tratada con monocrotalina inhalada con PK10453 + rata neumonectomizada (derecha). El tricrómico tiñe el colágeno de azul (el colágeno aumenta en el caso de fibrosis). El animal tratado con PK10453 tiene menos deposición de colágeno y la arquitectura alveolar parece normal mediante el uso de una lente microscópica objetiva de 10X.

La invención se define mejor con referencia a las reivindicaciones.

45 Referencias

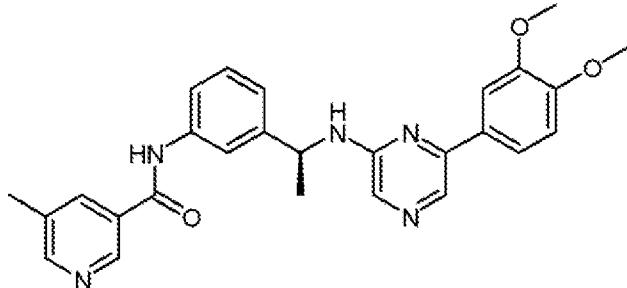
1. McLaughlin VV. Classification and epidemiology of pulmonary hypertension. *Cardiol Clin* 2004;22:327-41, v.
2. Fisher MR, Mathai SC, Champion HC, y otros Clinical differences between idiopathic and scleroderma-related pulmonary hypertension. *Arthritis Rheum* 2006;54:3043-50.
3. McLaughlin VV, Davis M, Cornwell W. Pulmonary arterial hypertension. *Curr Probl Cardiol* 2011;36:461-517.
4. Kusano KF. Treatment for pulmonary hypertension including lung transplantation. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2011;59:538-46.
5. Sitbon O, Jays X, Savale L, y otros Upfront triple combination therapy in pulmonary arterial hypertension: a pilot study. *Eur Respir J* 2014.
6. Pulido T, Rubin LJ, Simonneau G. Macitentan and pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2014;370:82-3.
7. Montani D, Chaumais MC, Guignabert C, y otros Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension. *Pharmacology & therapeutics* 2014;141:172-91.
8. Yang X, Mardekian J, Sanders KN, Mychaskiw MA, Thomas J, 3a. Prevalence of pulmonary arterial hypertension in patients with connective tissue diseases: a systematic review of the literature. *Clin Rheumatol* 2013;32:1519-31.
9. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, y otros Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:D34-41.
10. Seferian A, Simonneau G. Therapies for pulmonary arterial hypertension: where are we today, where do we go tomorrow? *Eur Respir Rev* 2013;22:217-26.

11. Rubin LJ, Galie N, Simonneau G, McLaughlin V. A paradigm shift in pulmonary arterial hypertension management. *Eur Respir Rev* 2013;22:423-6.
12. Pulido T, Adzerikho I, Channick RN, y otros Macitentan and morbidity and mortality in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013;369:809-18.
- 5 13. Montani D, Gunther S, Dorfmuller P, y otros Pulmonary arterial hypertension. *Orphanet journal of rare diseases* 2013;8:97.
14. Launay D, Sitbon O, Hachulla E, y otros Survival in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1940-6.
- 10 15. Ghofrani HA, Simonneau G, Rubin LJ, Autores de C, Patent. Riociguat for pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2013;369:2268.
16. Medarametla V, Festin S, Sugarragchaa C, y otros PK10453, a nonselective platelet-derived growth factor receptor inhibitor, prevents the progression of pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ* 2014;4:82-102.
17. Perros F, Montani D, Dorfmuller P, y otros Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Res Crit Care Med* 2008;178:81-8.
- 15 18. Dahal BK, Heuchel R, Pullamsetti SS, y otros Hypoxic pulmonary hypertension in mice with constitutively active platelet-derived growth factor receptor-beta. *Pulm Circ* 2011;1:259-68.
19. Schermuly RT, Dony E, Ghofrani HA, et al. Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest* 2005;115:2811-21.
- 20 20. Grimminger F, Schermuly RT. PDGF receptor and its antagonists: role in treatment of PAH. *Adv Exp Med Biol* 2010;661:435-46.
21. Ghofrani HA, Morrell NW, Hoeper MM, y otros Imatinib in pulmonary arterial hypertension patients with inadequate response to established therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:1171-7.
22. Ciulcan L, Hussey MJ, Burton V, y otros Imatinib attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension pathology via reduction in 5-hydroxytryptamine through inhibition of tryptophan hydroxylase 1 expression. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:78-89.
- 25 23. Hoeper MM, Barst RJ, Bourge RC, y otros Imatinib mesylate as add-on therapy for pulmonary arterial hypertension: results of the randomized IMPRES study. *Circulation* 2013;127:1128-38.
24. Kanno S, Wu YJ, Lee PC, Billiar TR, Ho C. Angiotensin-converting enzyme inhibitor preserves p21 and endothelial nitric oxide synthase expression in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. *Circulation* 2001;104:945-50.
- 30 25. Abe K, Toba M, Alzoubi A, y otros Formation of plexiform lesions in experimental severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2010;121:2747-54.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación que comprende:

5 a) un compuesto de la fórmula:



10 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
15 b) al menos un excipiente,

20 en donde la formulación es un polvo seco.

- 25 2. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polvo seco tiene un contenido de humedad inferior al 5 % en peso de agua.
- 30 3. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde el excipiente es un aminoácido hidrófobo.
- 35 4. La formulación de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el aminoácido hidrófobo es leucina.
- 40 5. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde el excipiente es un agente de carga tipo carbohidrato.
- 45 6. La formulación de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el agente de carga tipo carbohidrato es trehalosa.
- 50 7. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la formulación comprende dos excipientes, en donde los dos excipientes son leucina y trehalosa.
- 55 8. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para usar en el tratamiento de un trastorno pulmonar.
9. La formulación para usar en la reivindicación 8, en donde el trastorno pulmonar es hipertensión arterial pulmonar.
10. La formulación para usar en cualquiera de las reivindicaciones 8 y 9, en donde la hipertensión arterial pulmonar está asociada con fibrosis pulmonar.
11. La formulación para usar en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en donde la formulación está formulada para la administración por inhalación.
12. La formulación para usar en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en donde la formulación se formula para la administración por vía intranasal.
13. La formulación para usar en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, en donde la formulación está formulada para la administración mediante un inhalador de polvo seco.
14. La formulación para usar en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, en donde la formulación se formula para la administración en una forma no presurizada.
15. La formulación para usar de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, en donde la formulación está formulada para la administración de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg por día.

Figura 1

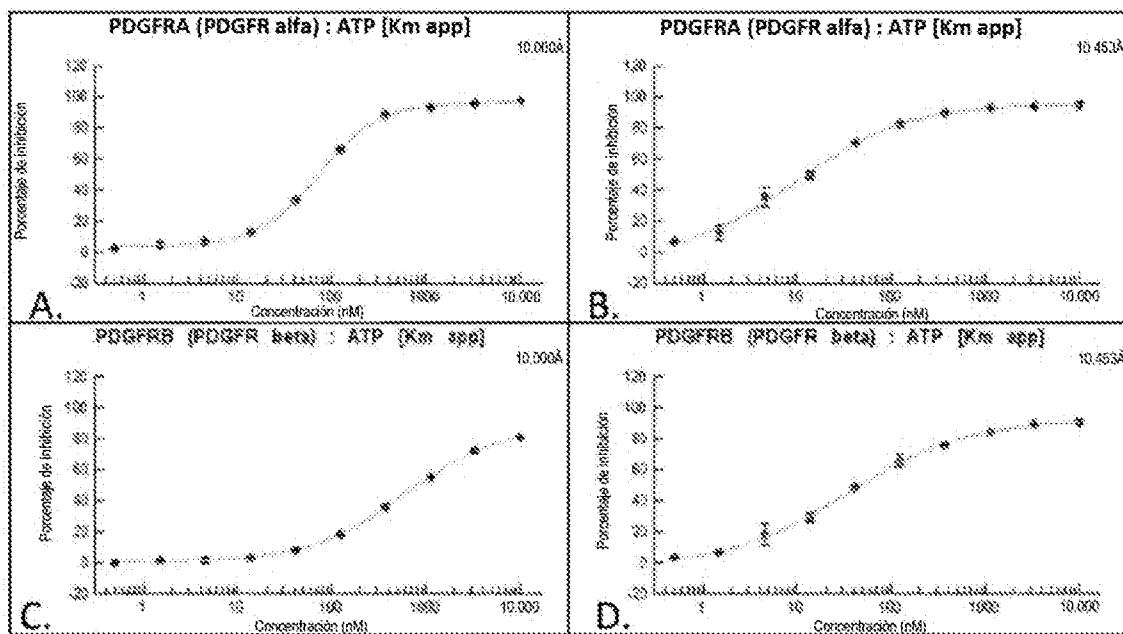


Figura 2

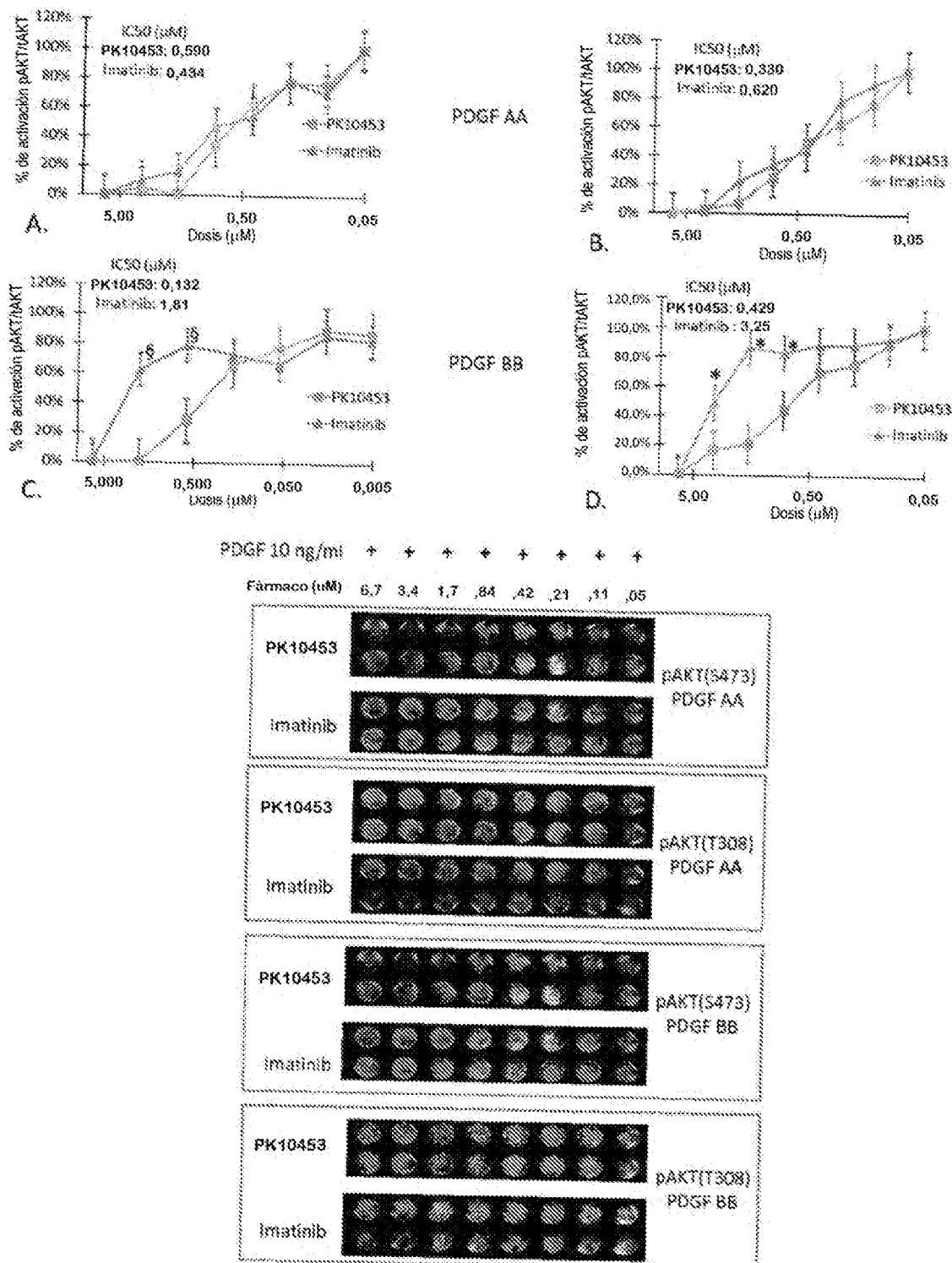


Figura 3

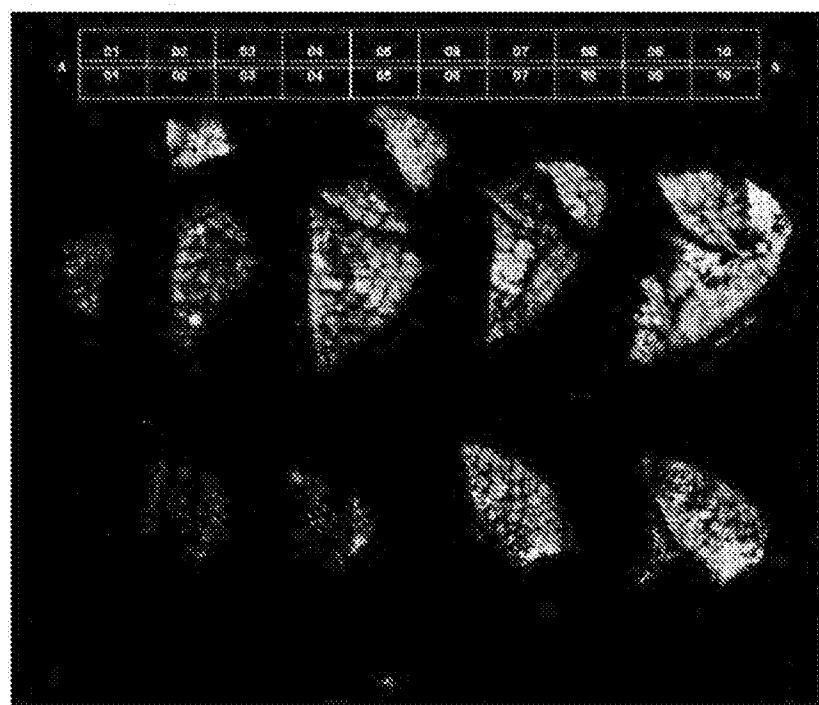


Figura 4

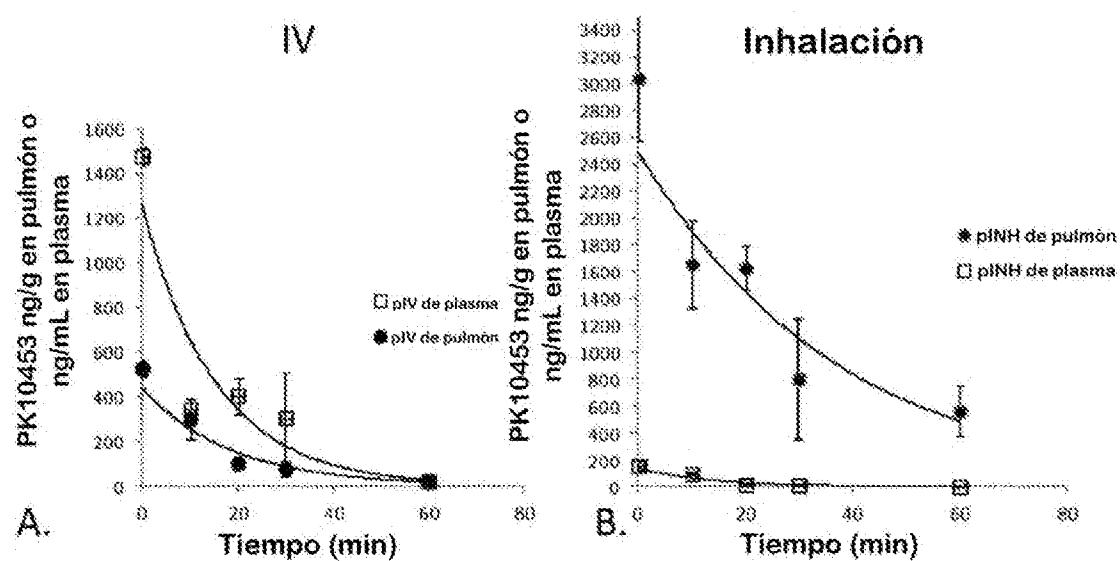


Figura 5

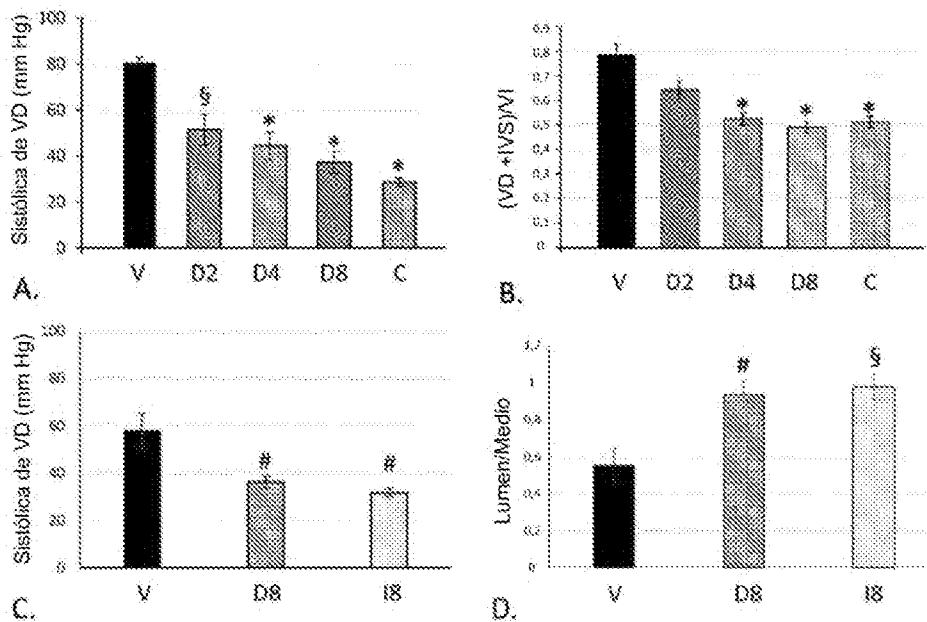


Figura 6

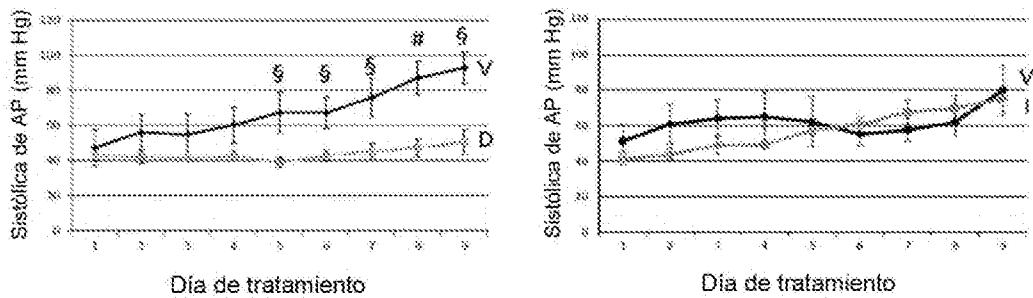


Figura 7

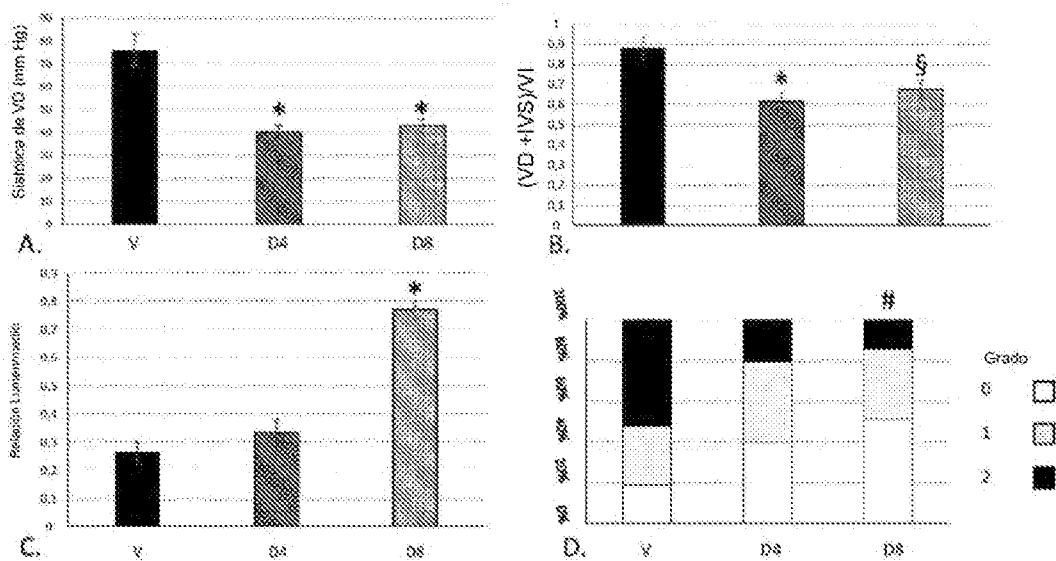


Figura 8

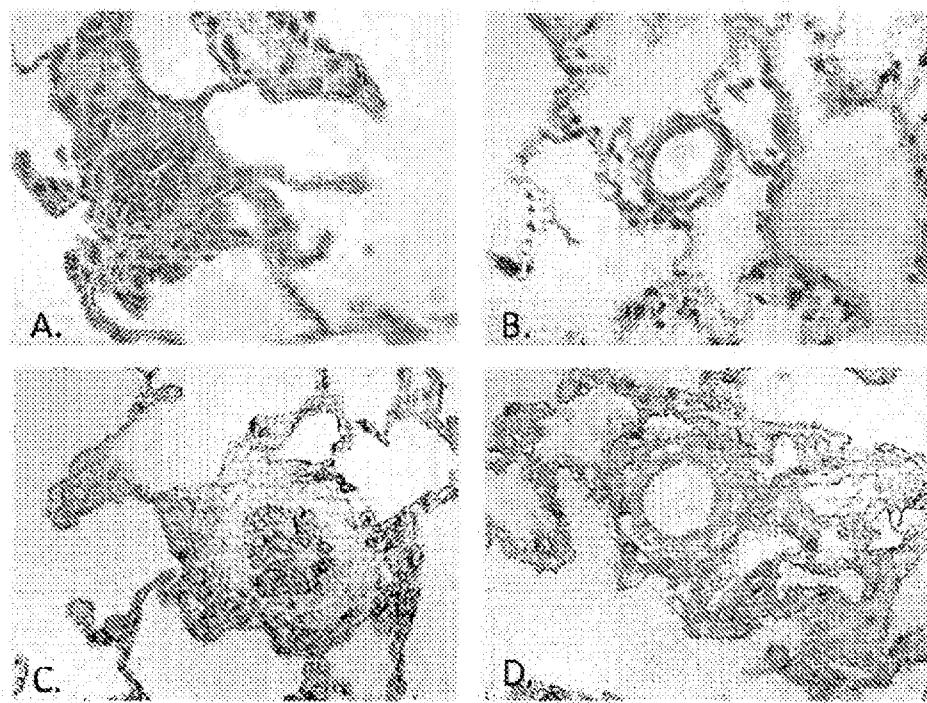


Figura 9

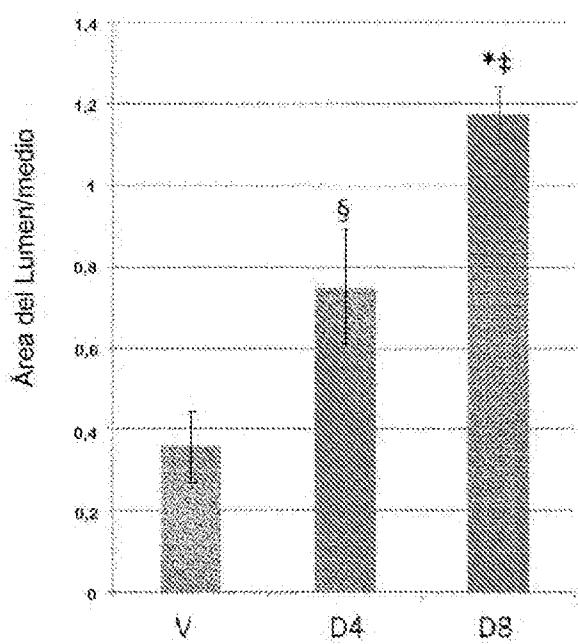


Figura 10

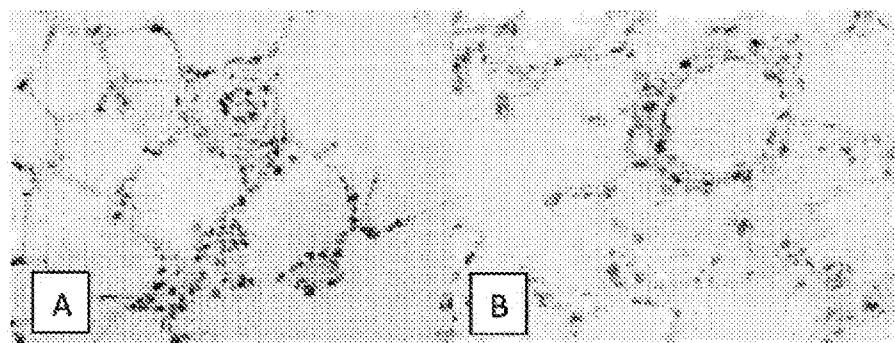


Figura 11

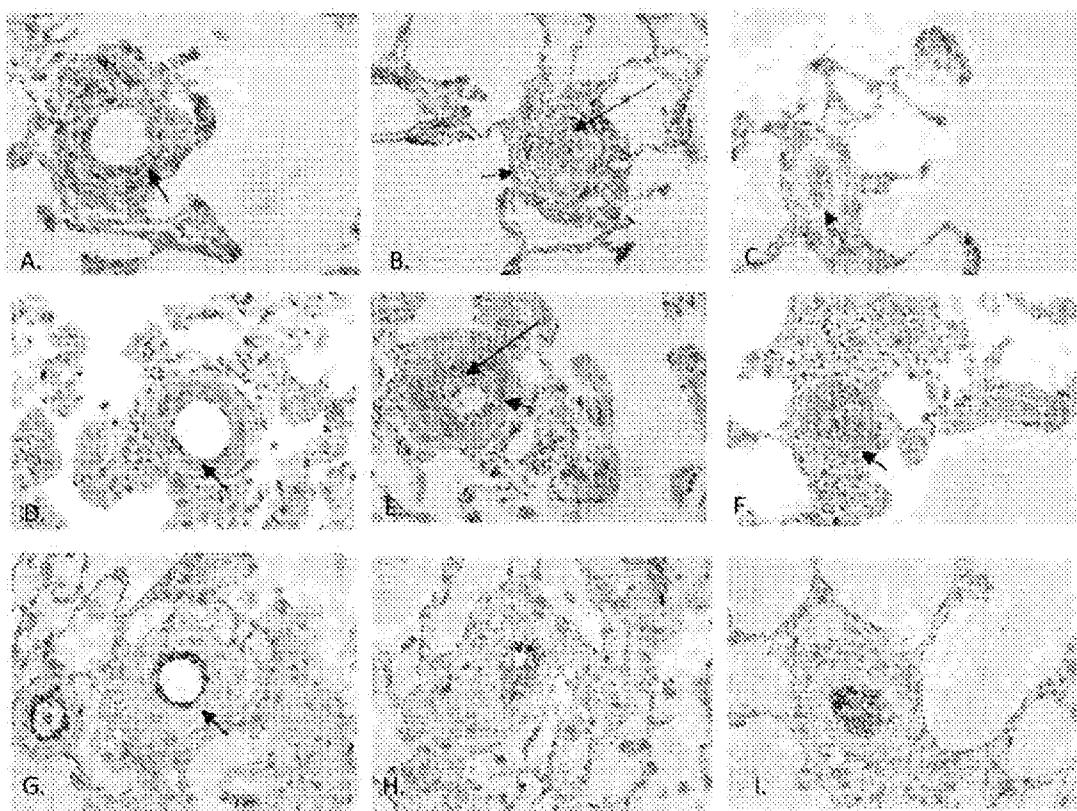


Figura 12

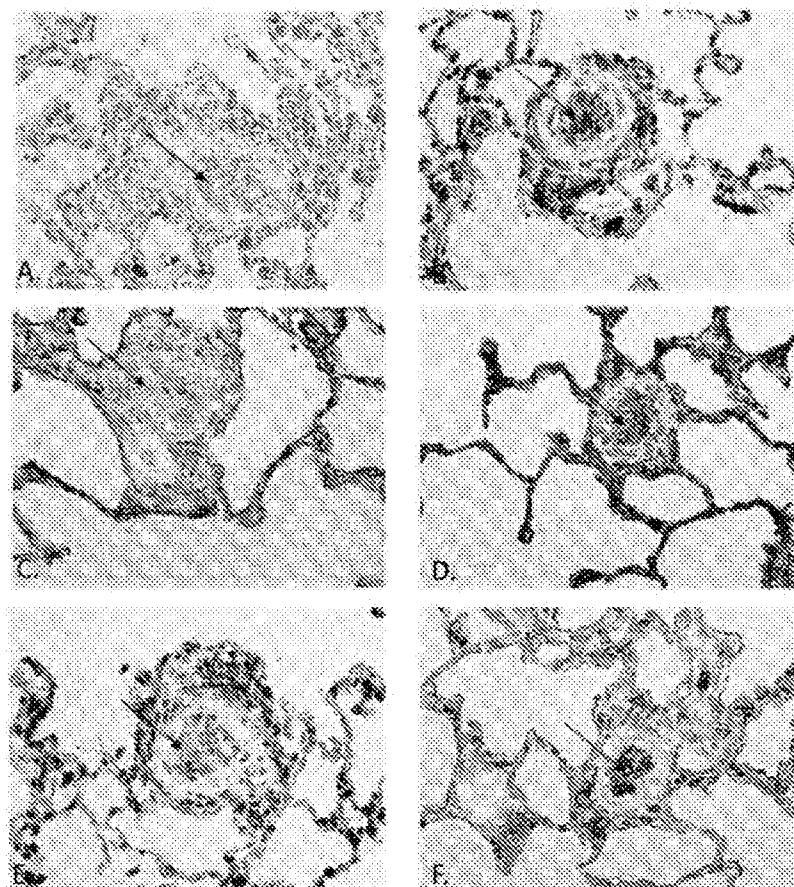


Figura 13

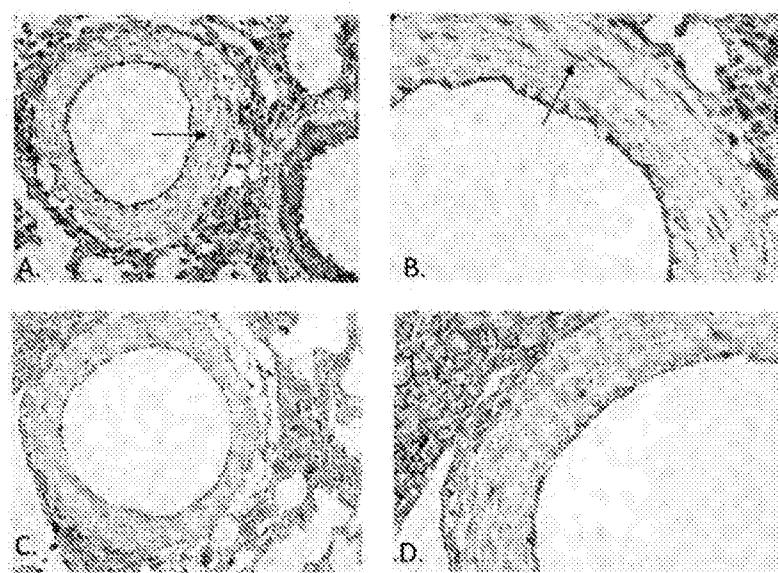


Figura 14

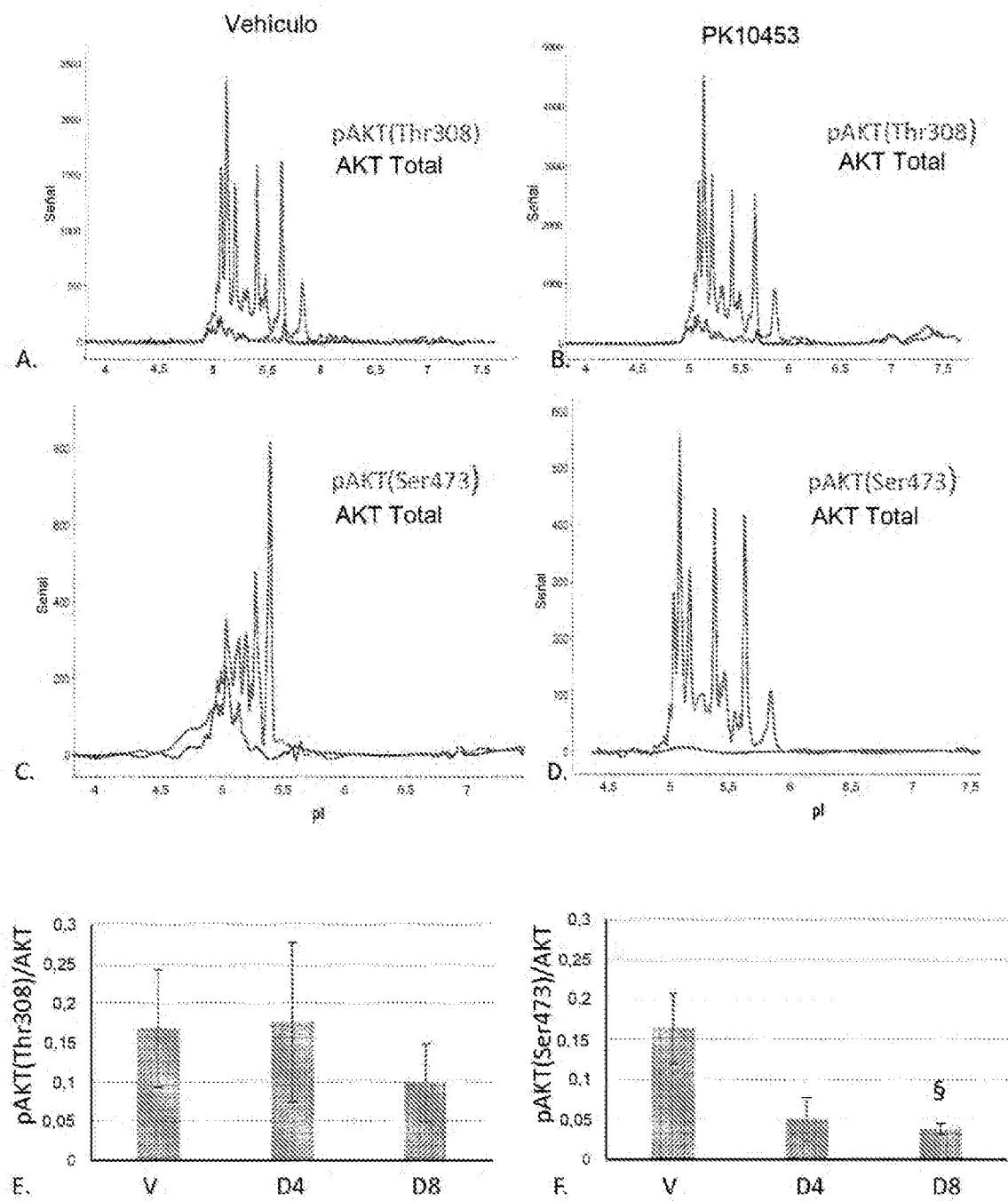


Figura 15

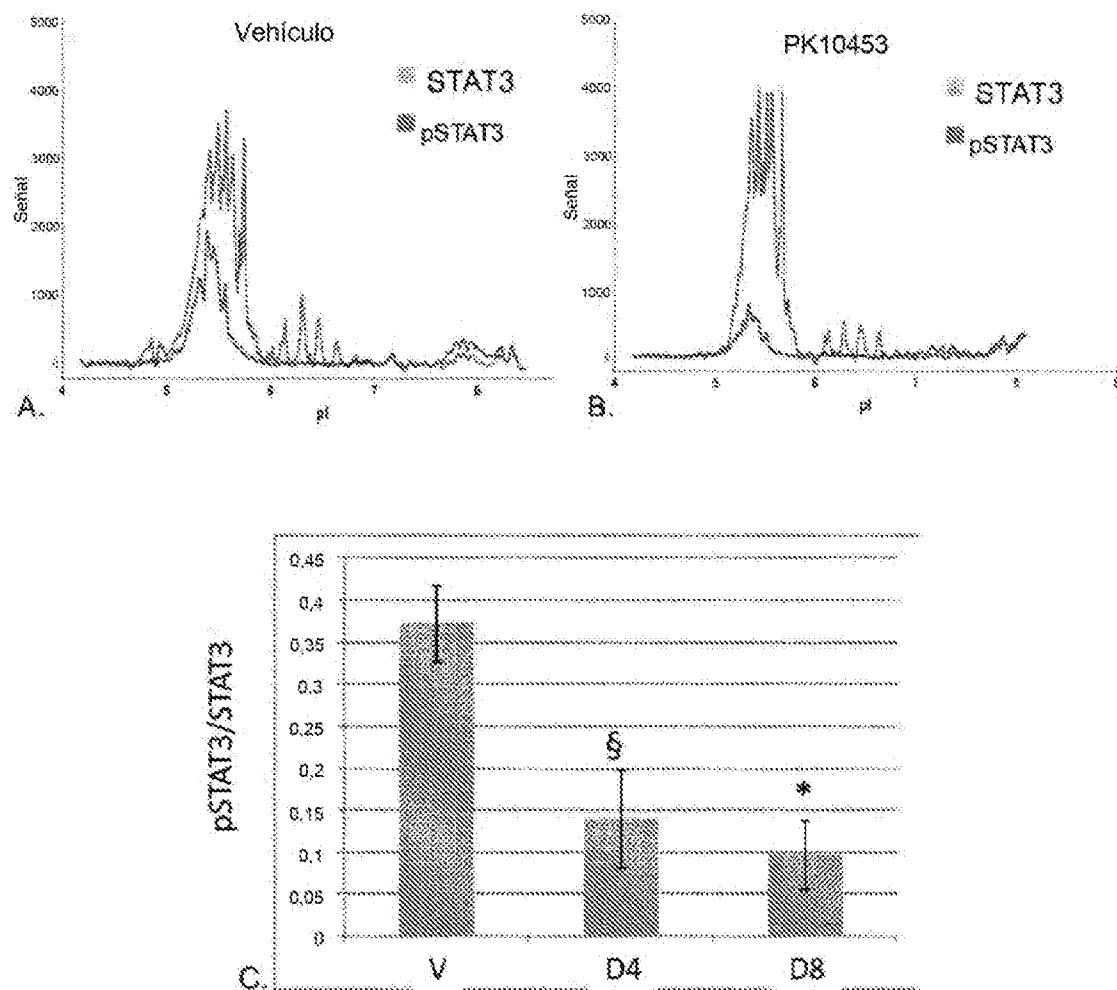


Figura 16

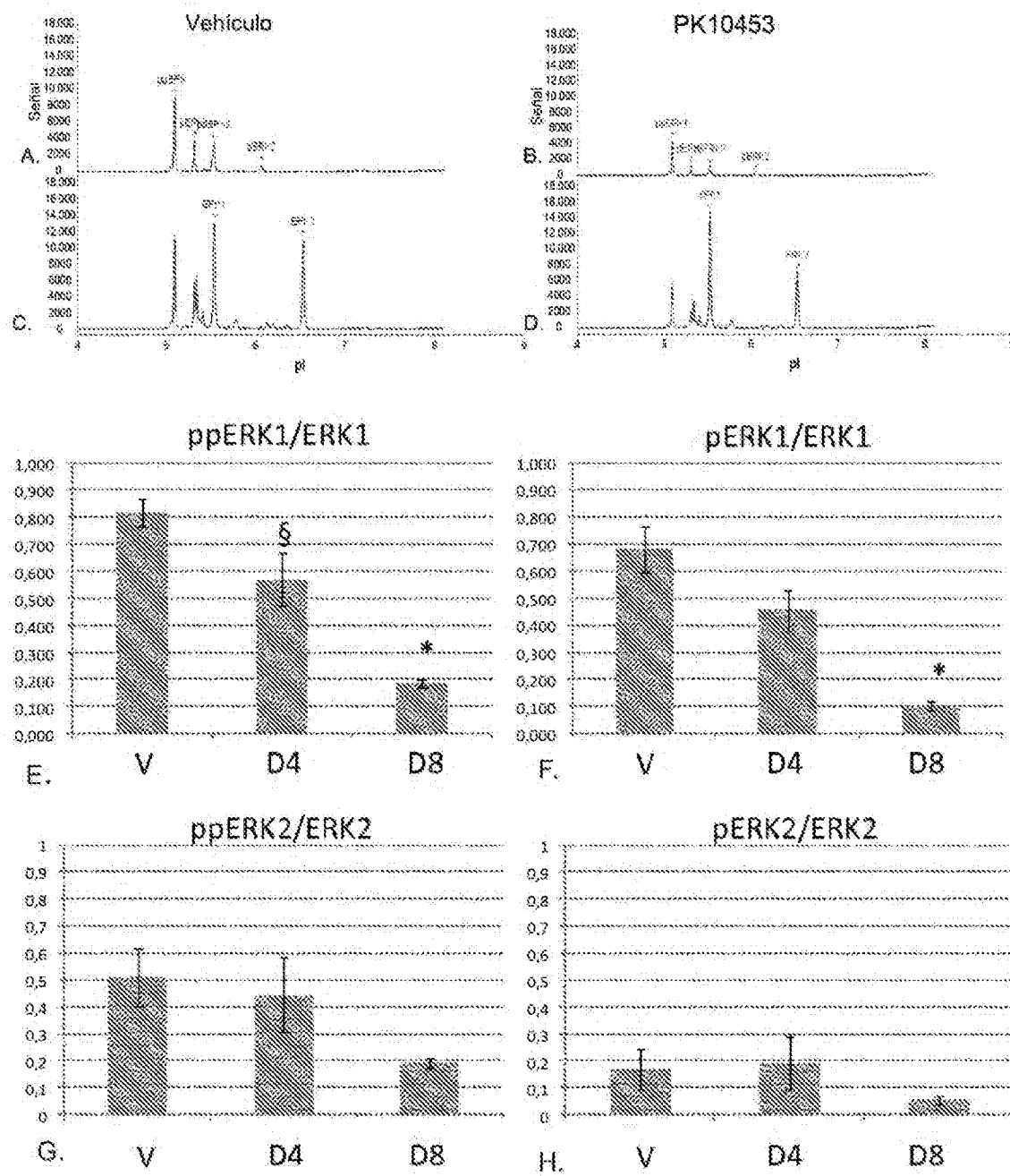


Figura 17

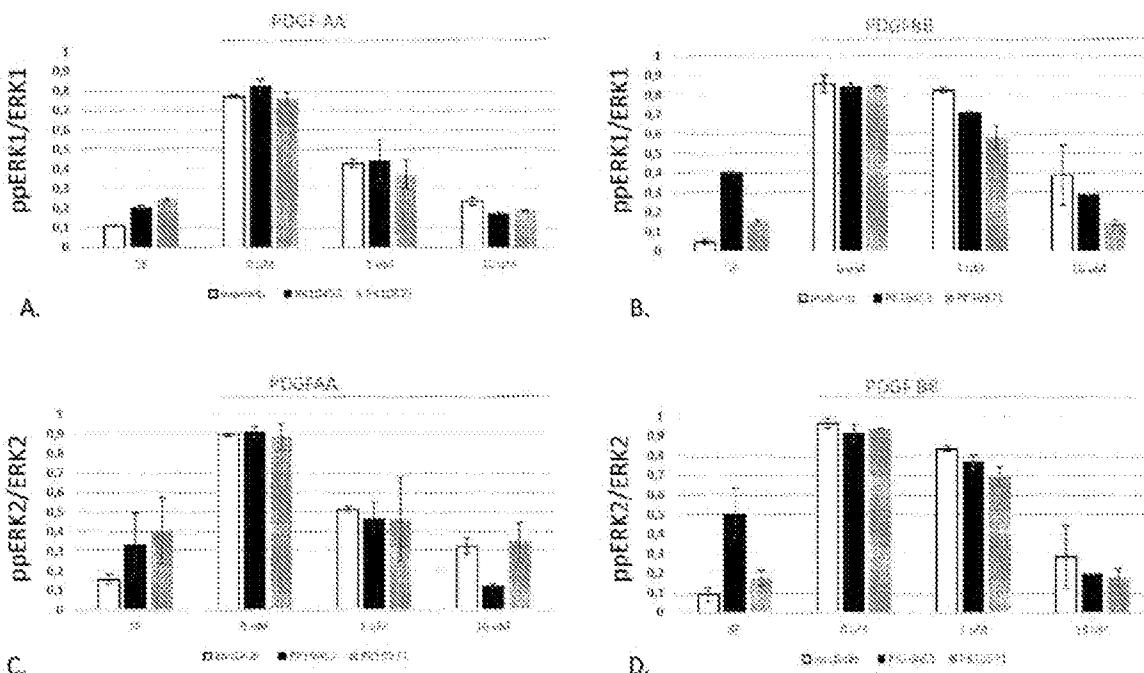


Figura 18

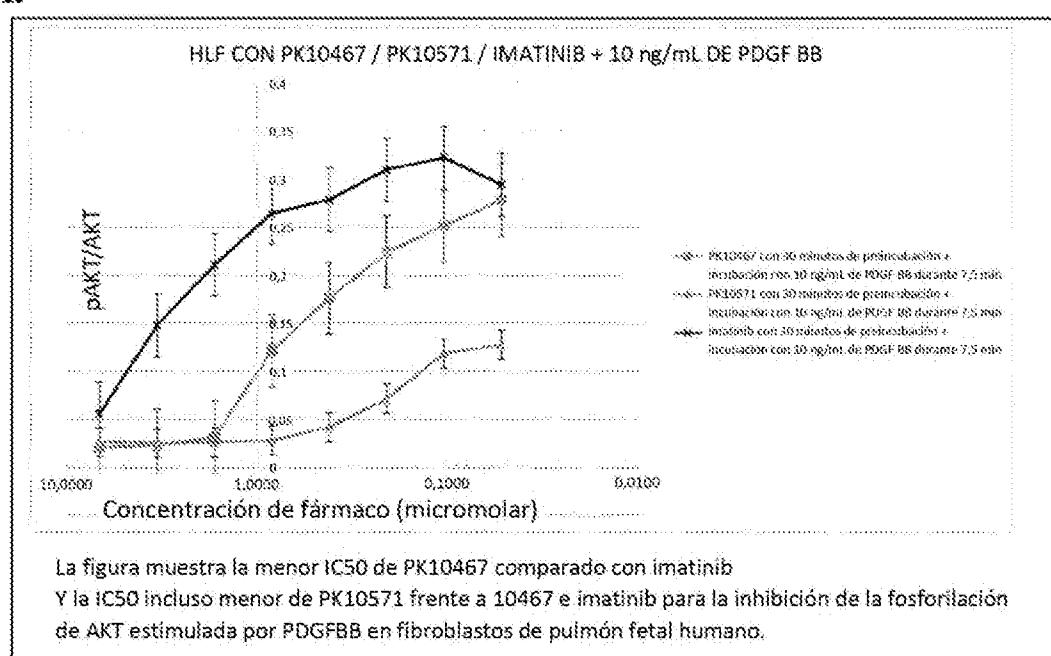
A.

Figura 18

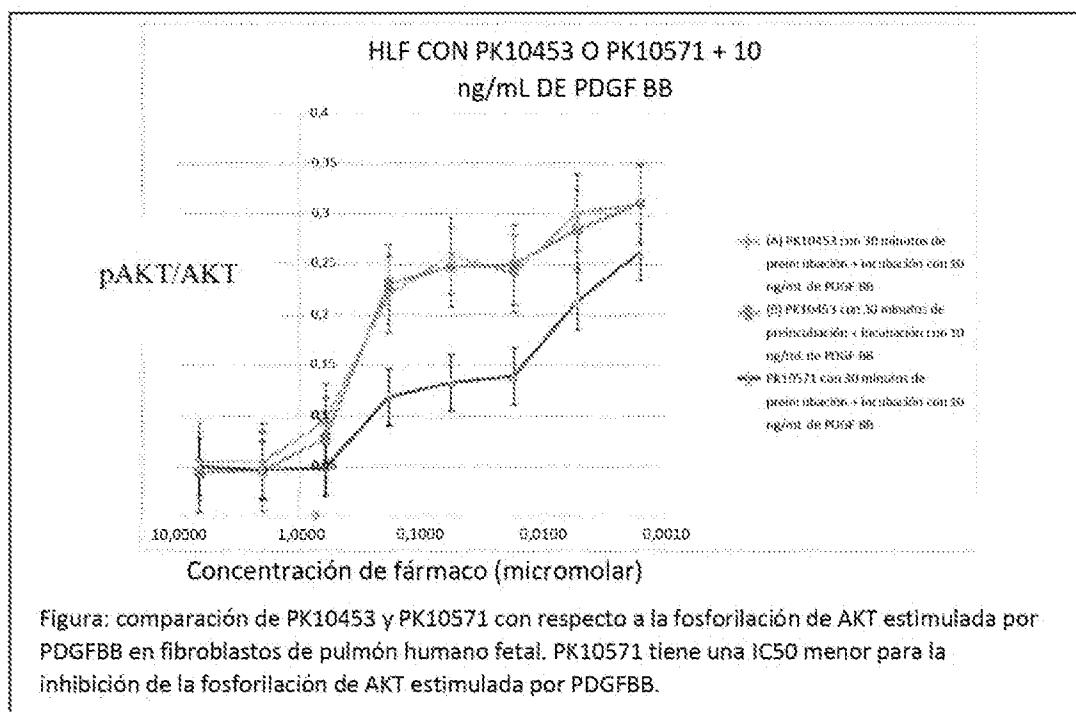
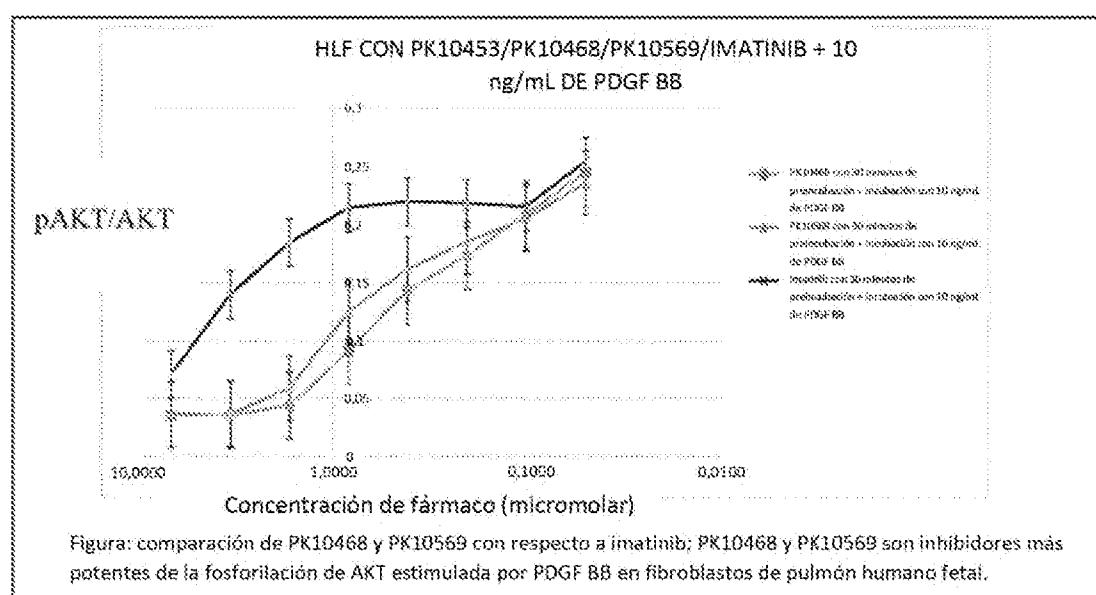
B.**C.**

Figura 18

D.

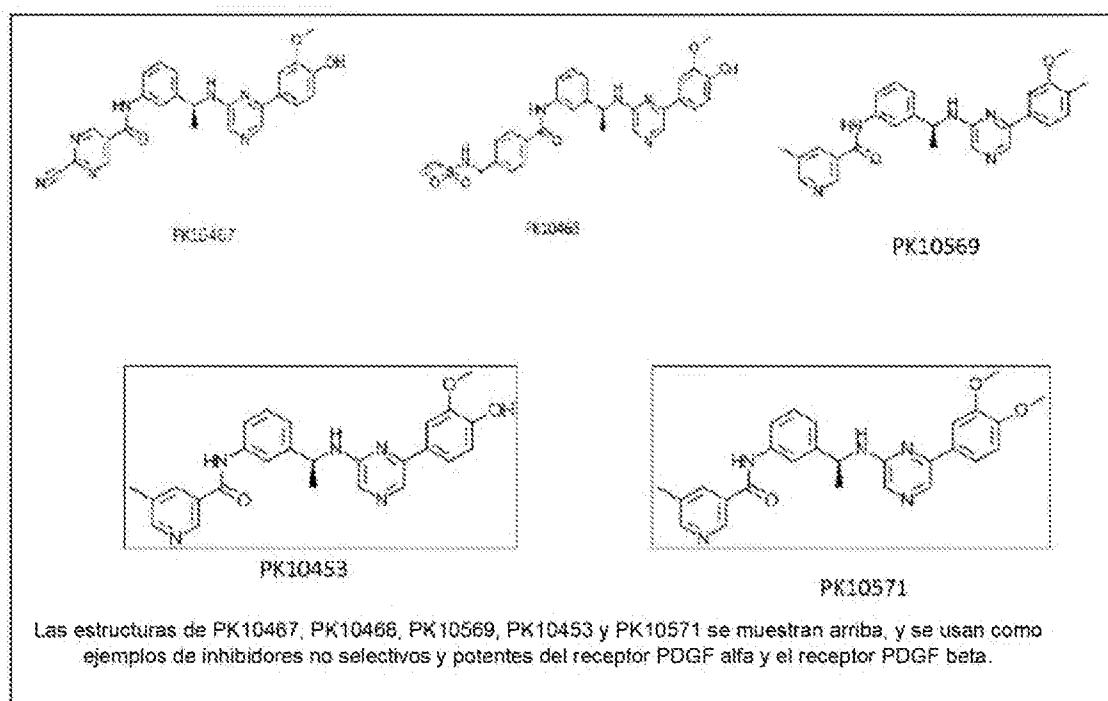


Figura 19

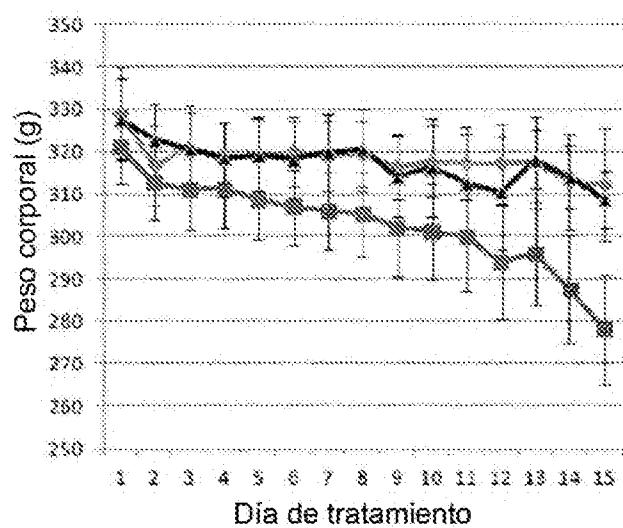


Figura 20

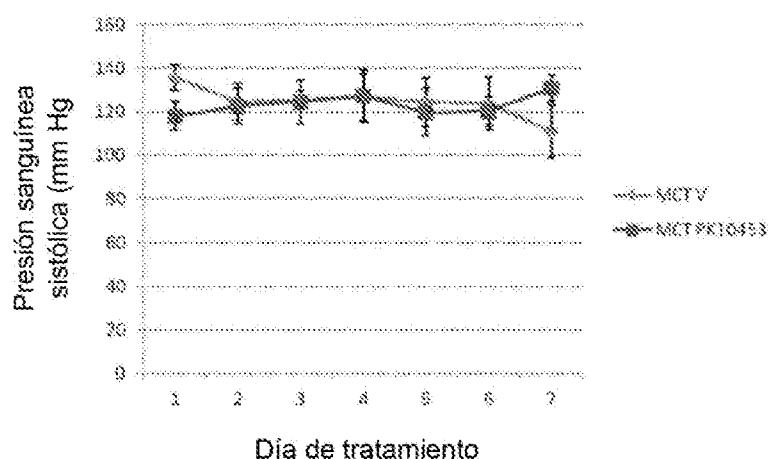


Figura 21

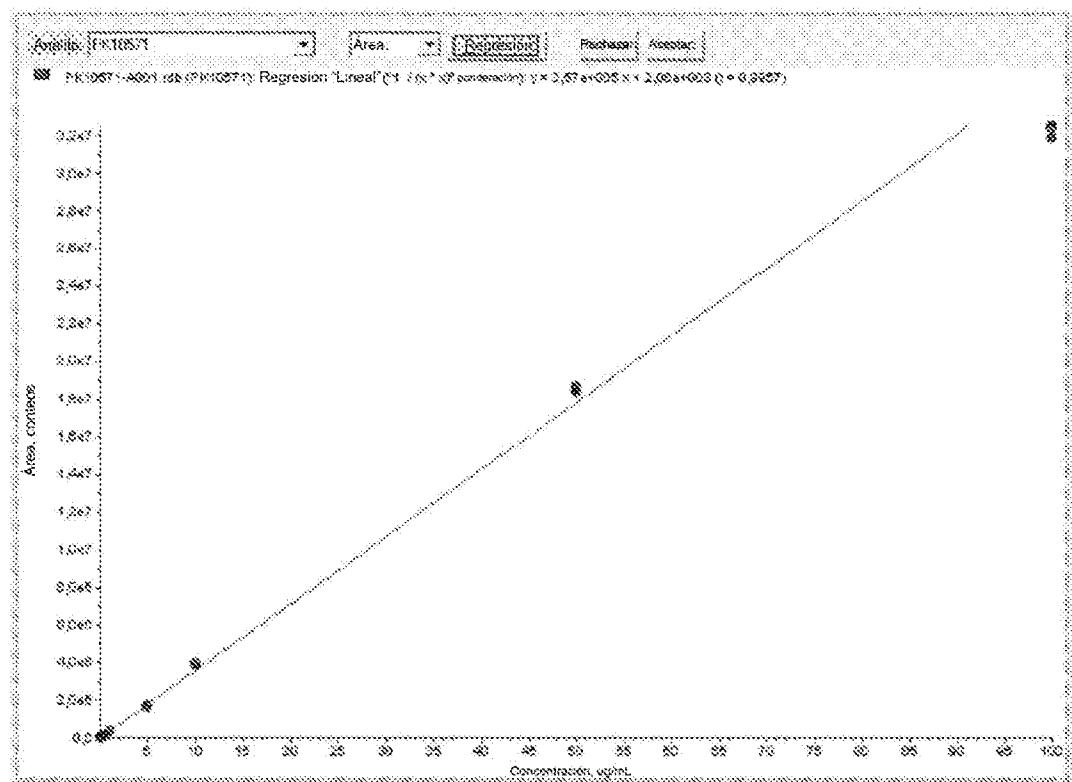


Figura 22

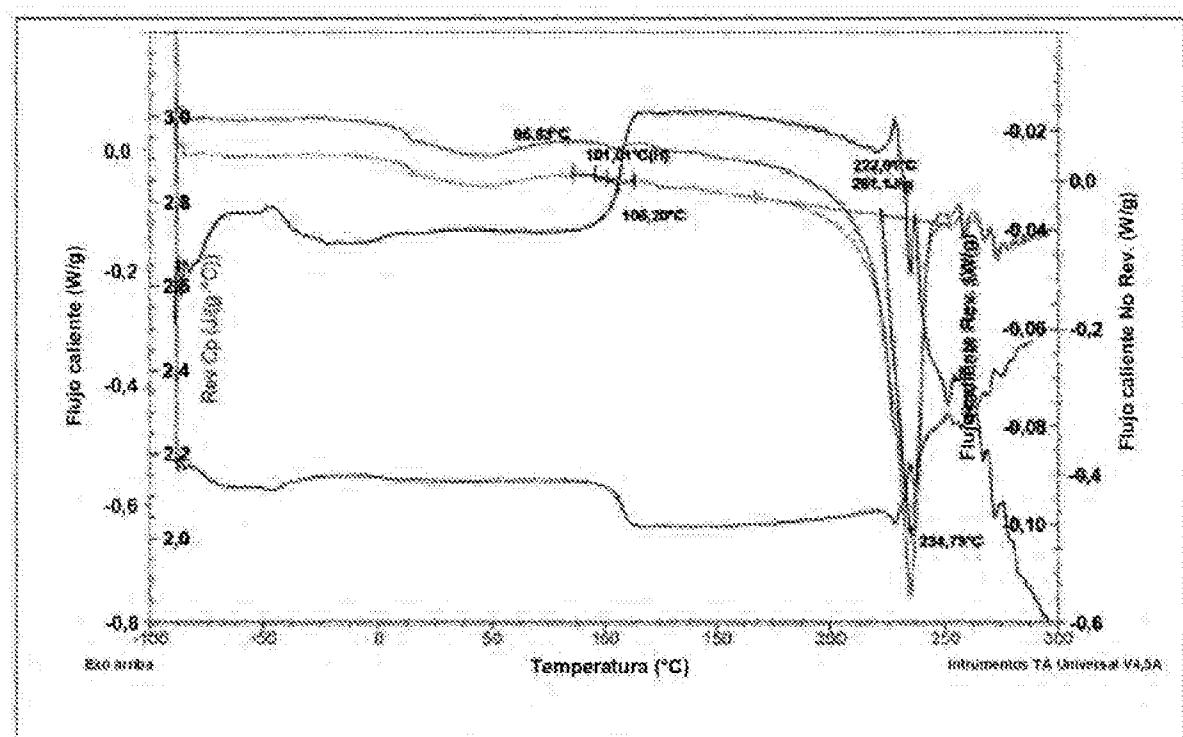


Figura 23

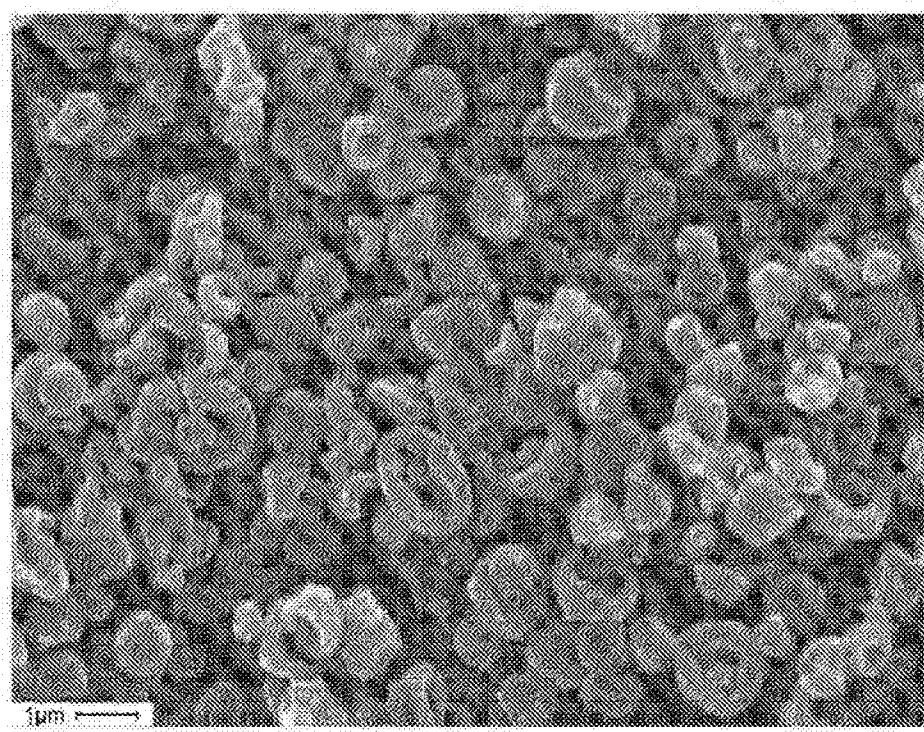


Figura 24

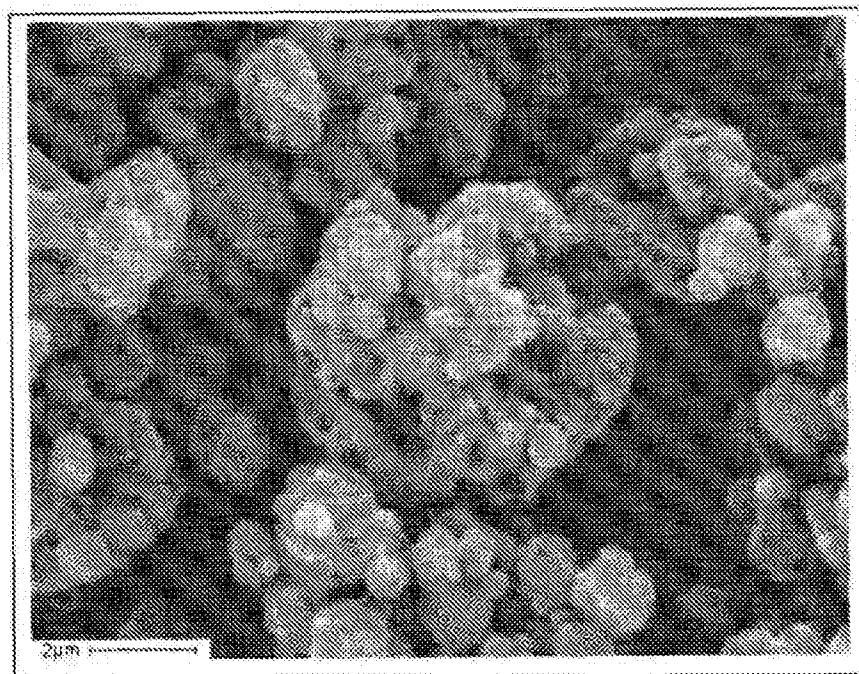


Figura 25

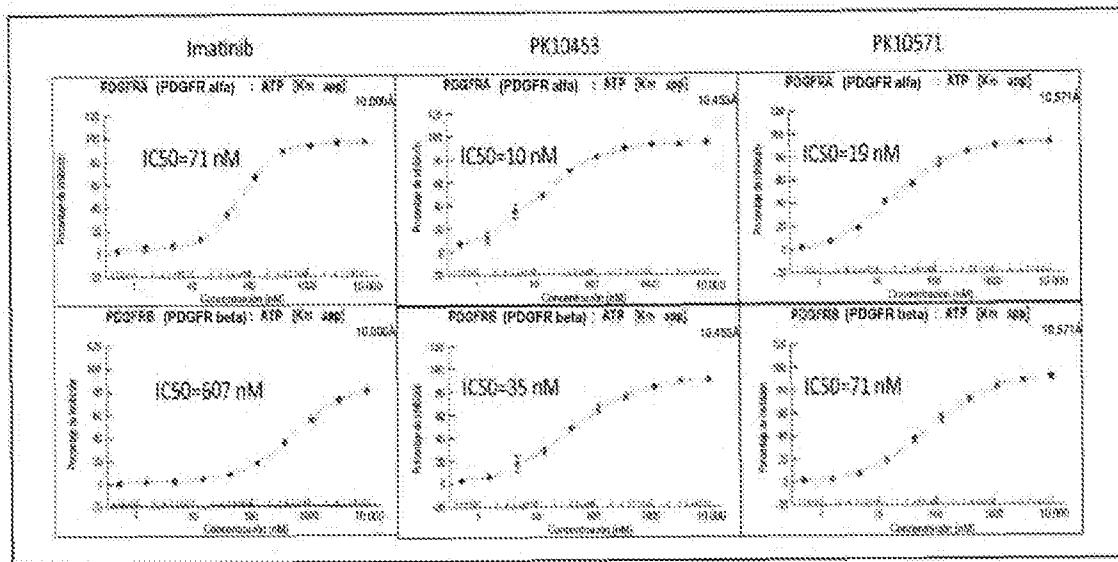


Figura 26

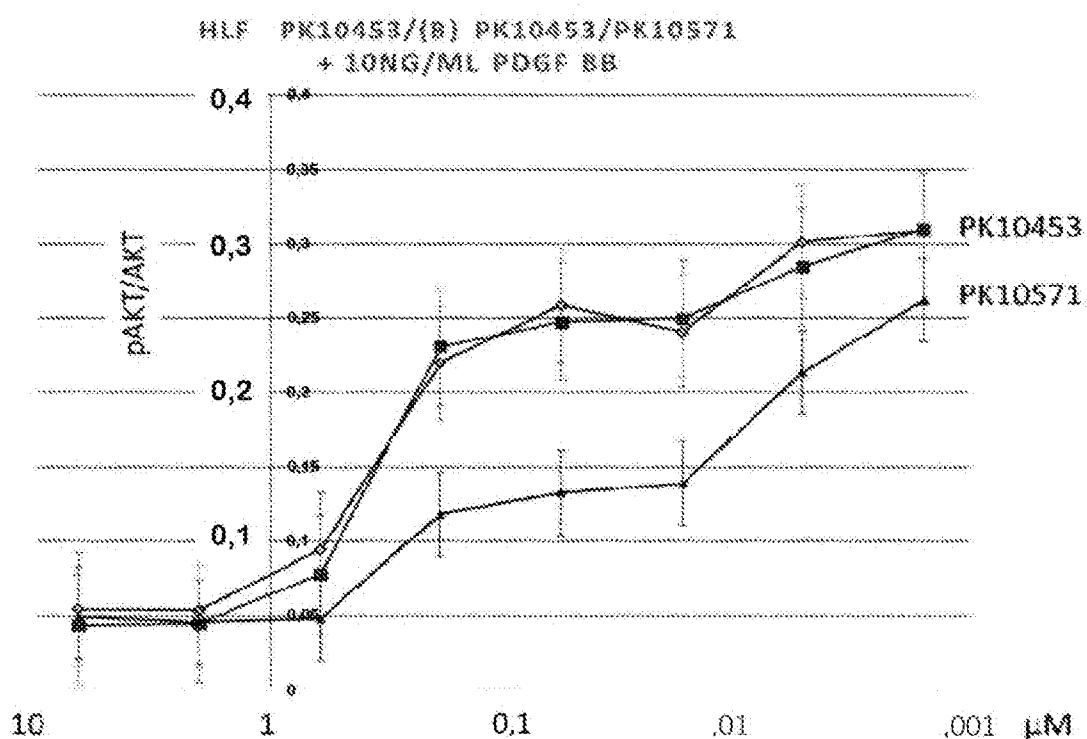


Figura 27

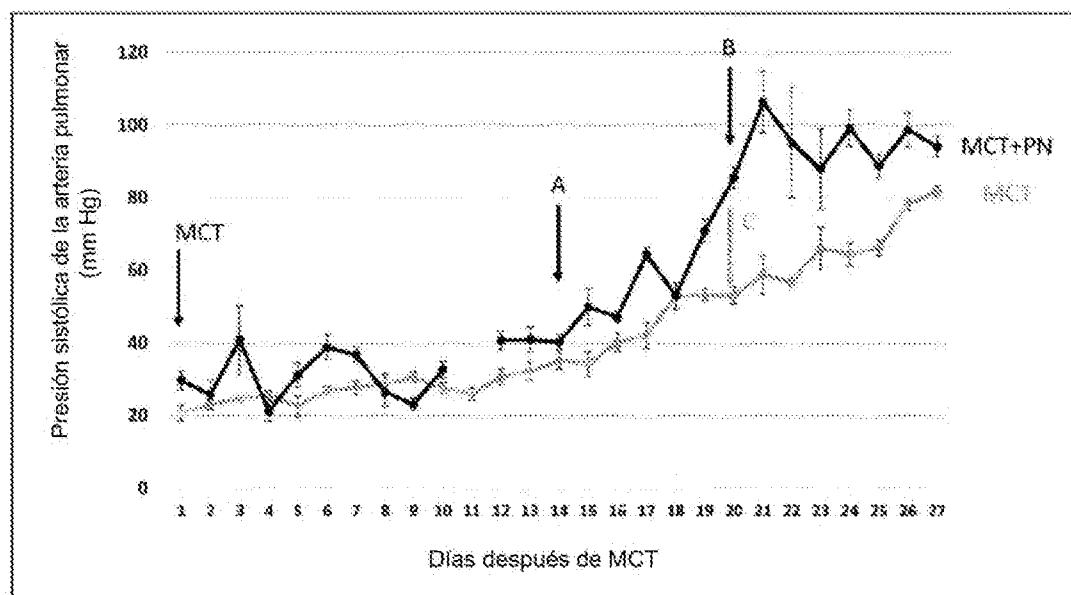


Figura 28

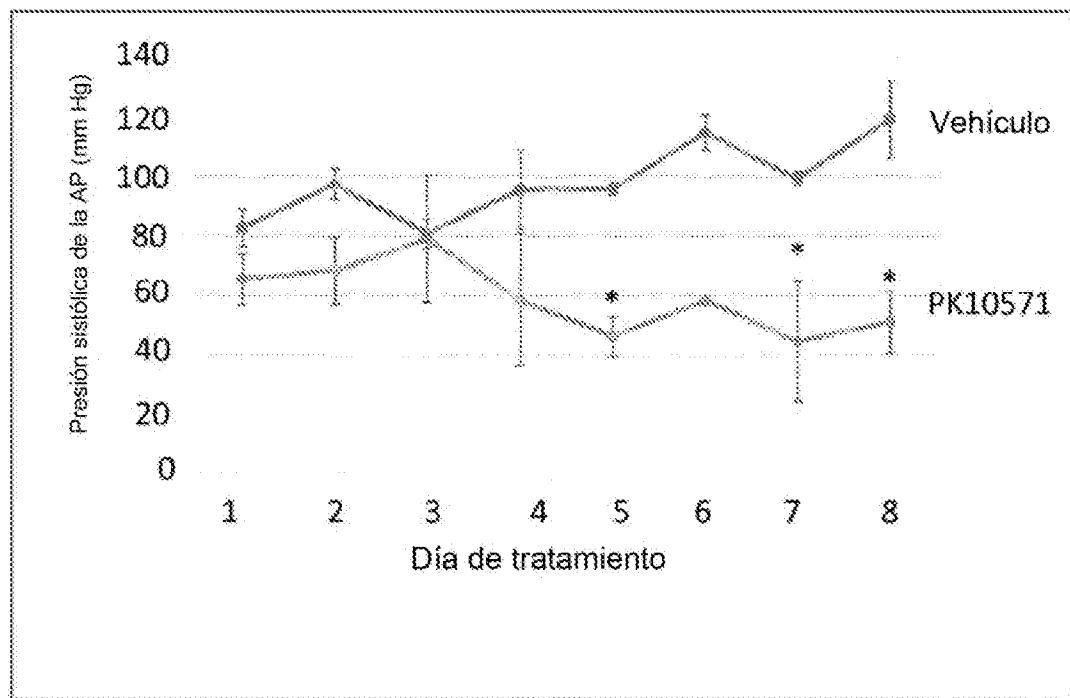


Figura 29

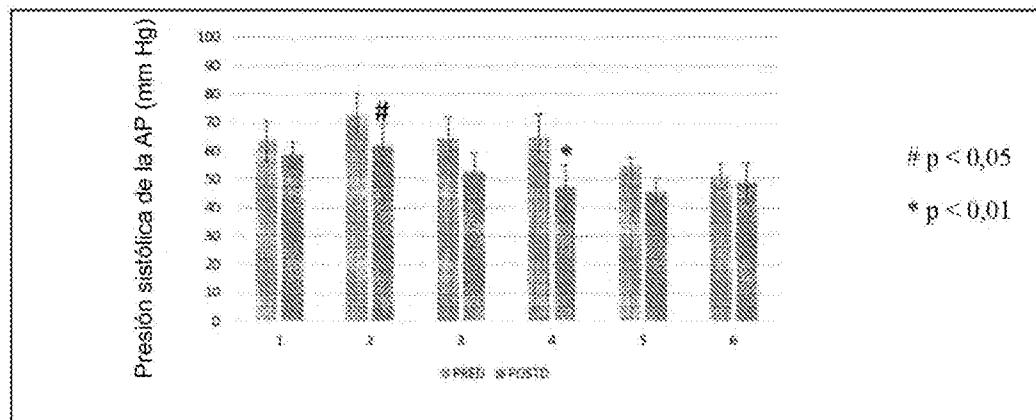


Figura 30

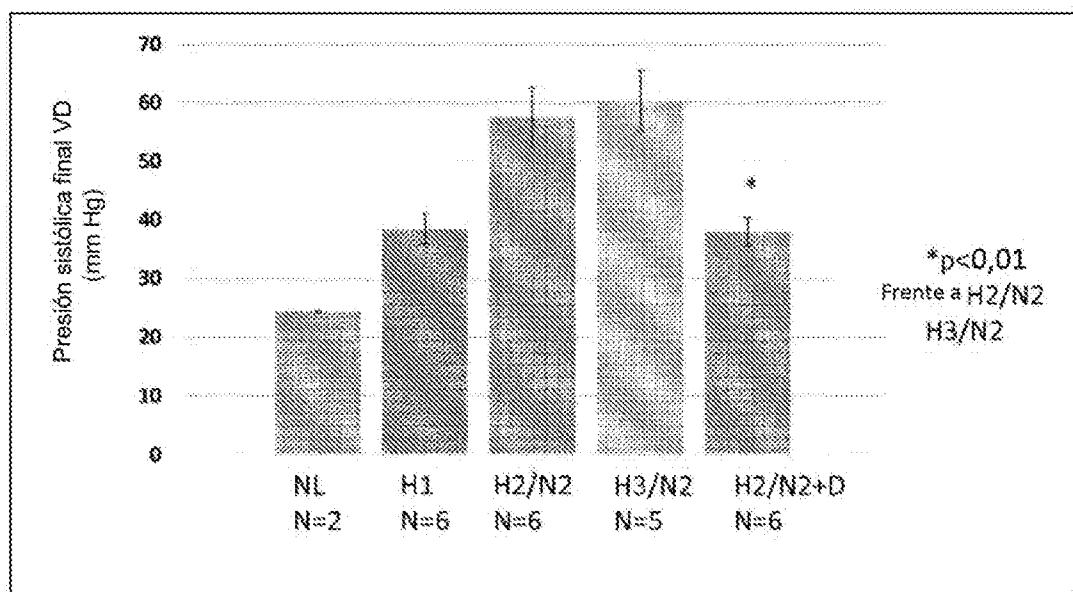


Figura 31

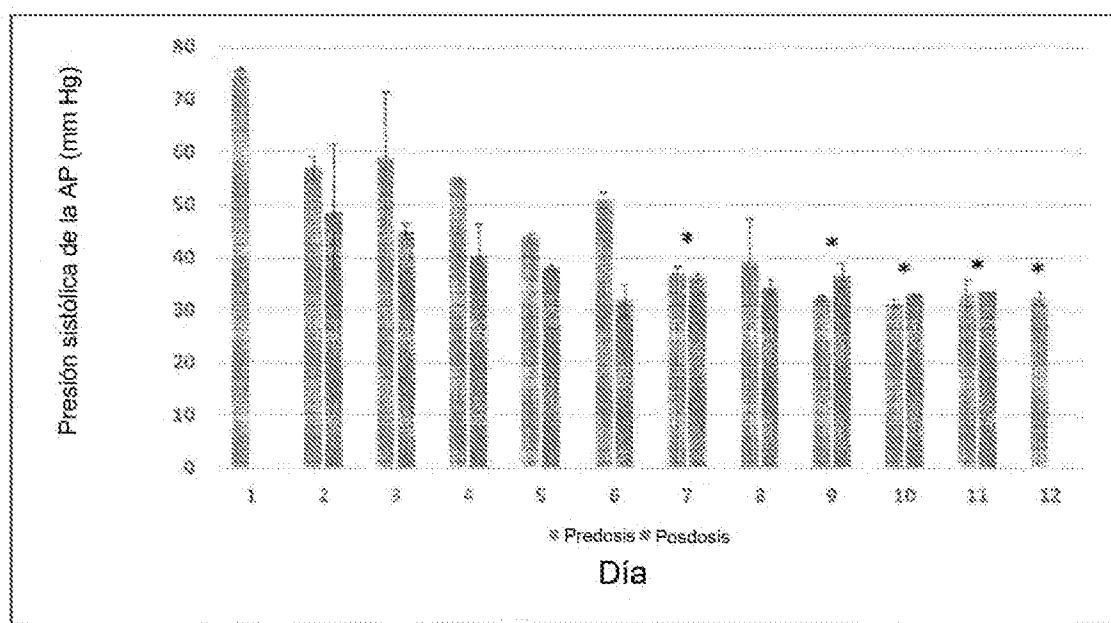


Figura 32

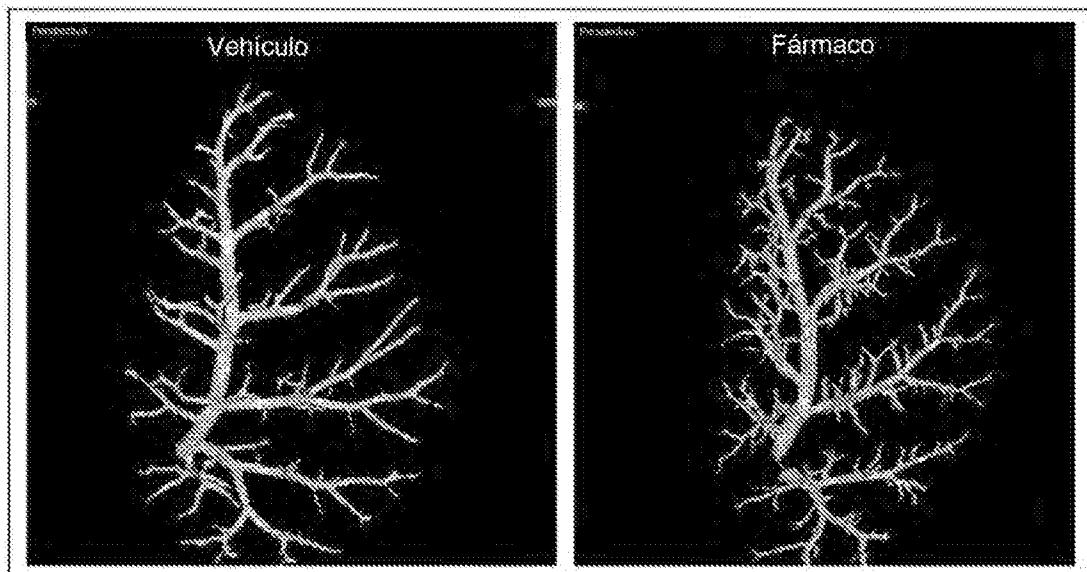


Figura 33

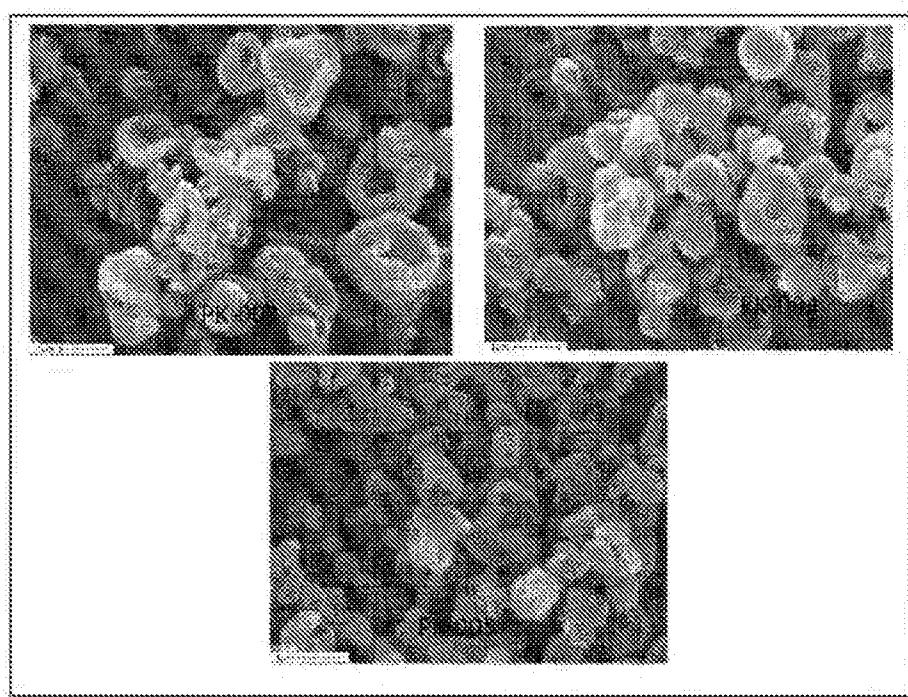


Figura 34

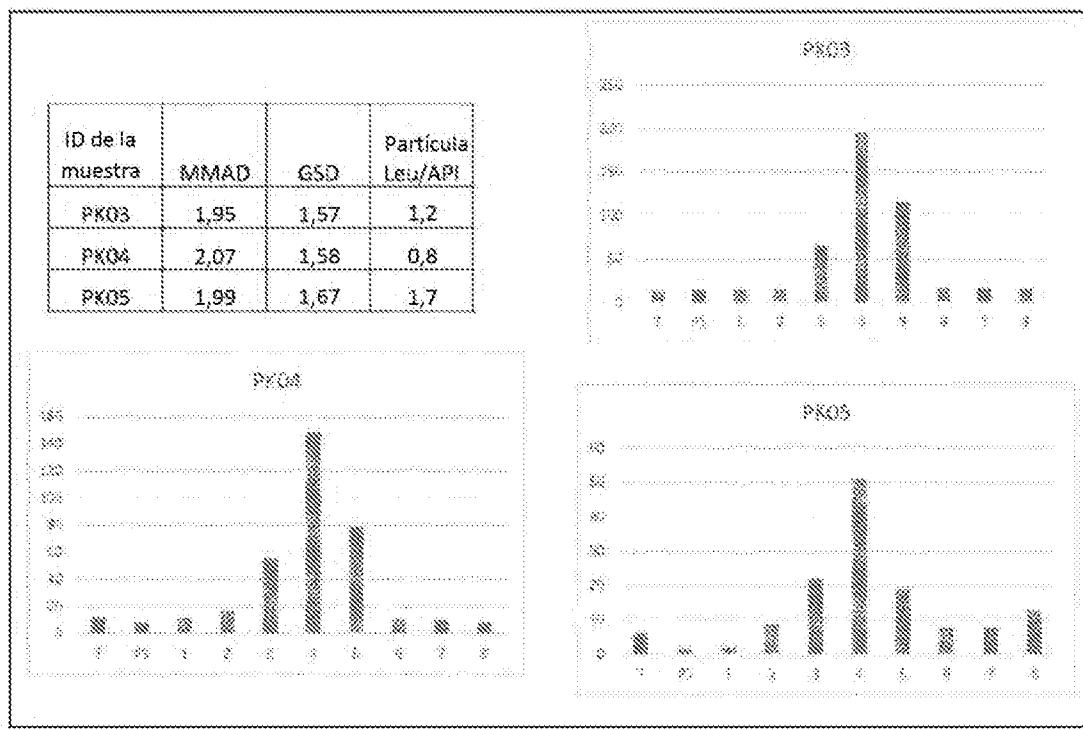


Figura 35

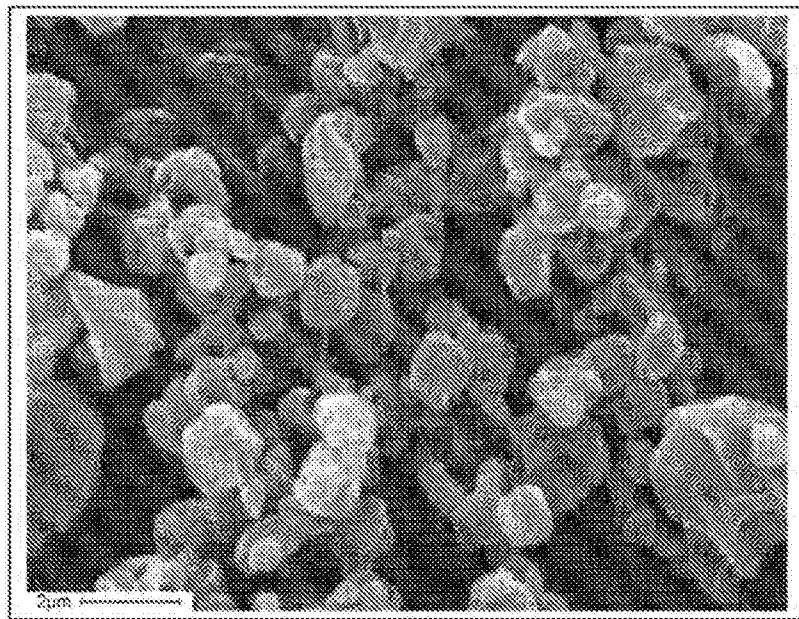


Figura 36

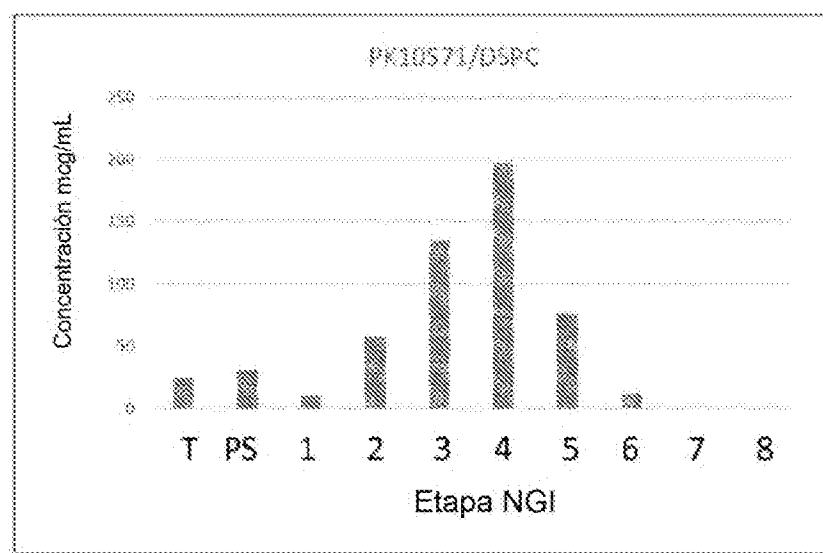
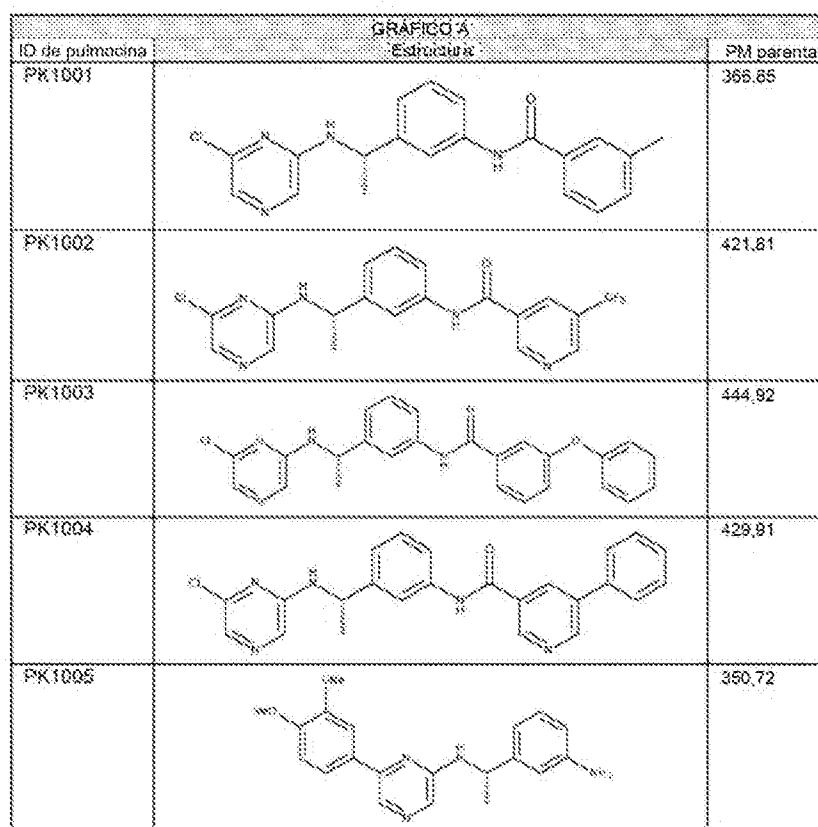
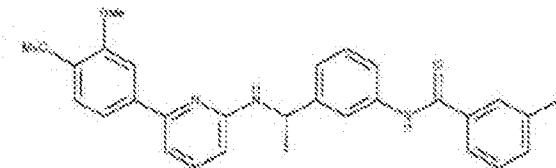
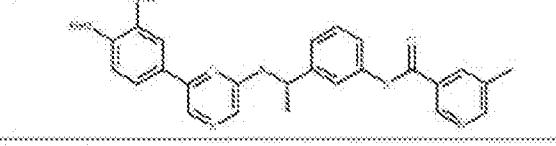
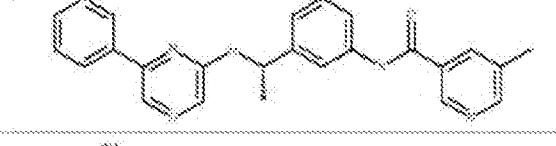
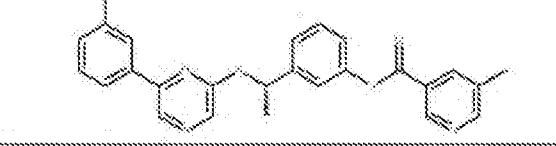
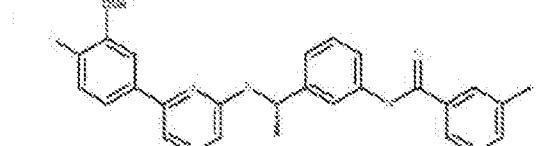
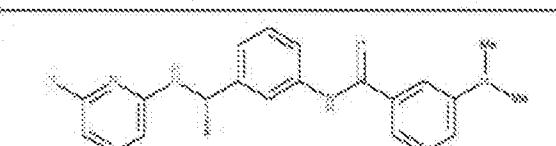
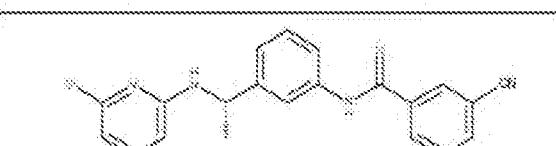
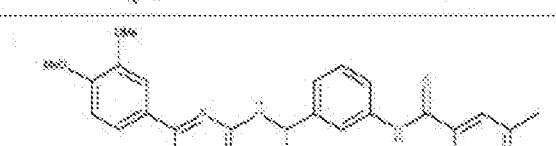


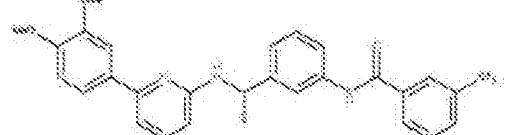
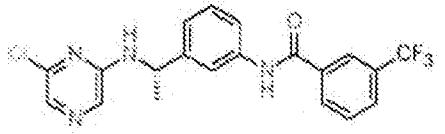
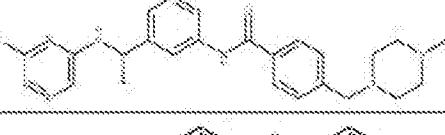
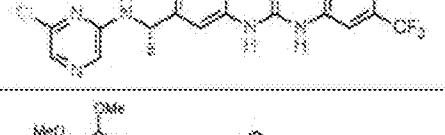
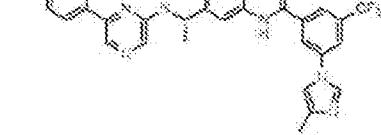
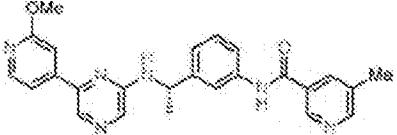
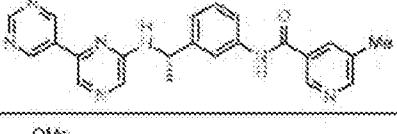
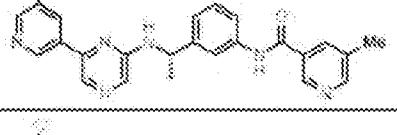
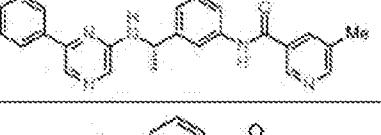
Figura 37
Hojas 22-25/29



ES 2 959 419 T3

PK1005		468,55
PK10571		469,54
PK1038		410,48
PK1009		439,52
PK1010		457,51
PK1011		395,88
PK1012		377,83
PK1013		486,54
PK1014		601,42
PK1015		485,54

ES 2 959 419 T3

PK1016		523.51
PK1017		522.52
PK1018		429.82
PK1019		464.99
PK1020		435.63
PK1021		602.61
PK1022		440.50
PK1023		411.46
PK1024		440.50
PK1025		443.93
PK1027		384.83

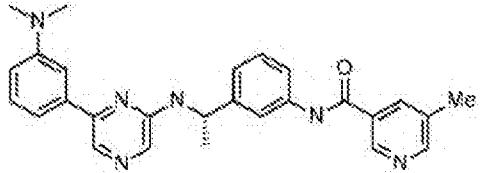
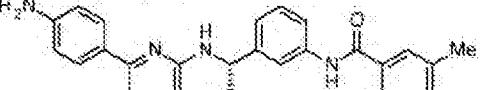
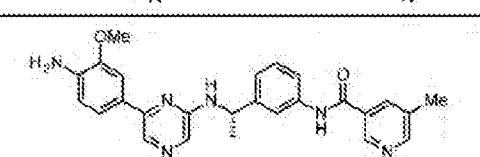
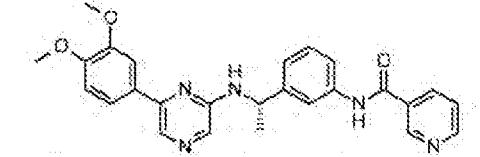
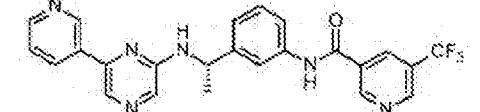
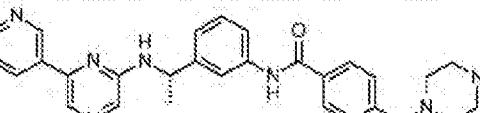
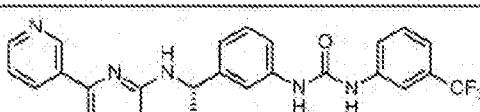
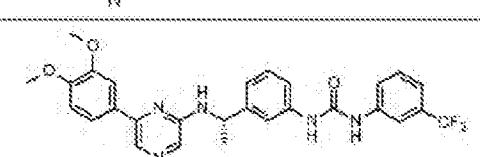
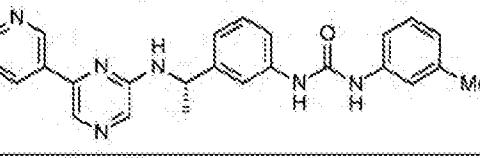
PK1028		462.46
PK1029		424.50
PK1030		454.53
PK1031		455.51
PK1032		464.44
PK1033		507.63
PK1034		478.47
PK1035		537.53
PK1036		424.50

Figura 38

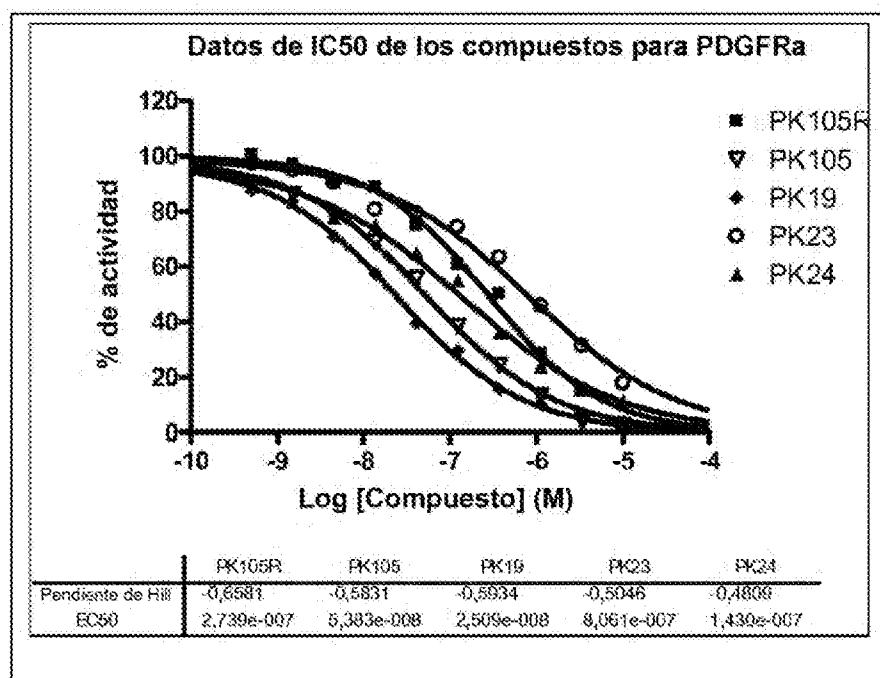


Figura 39

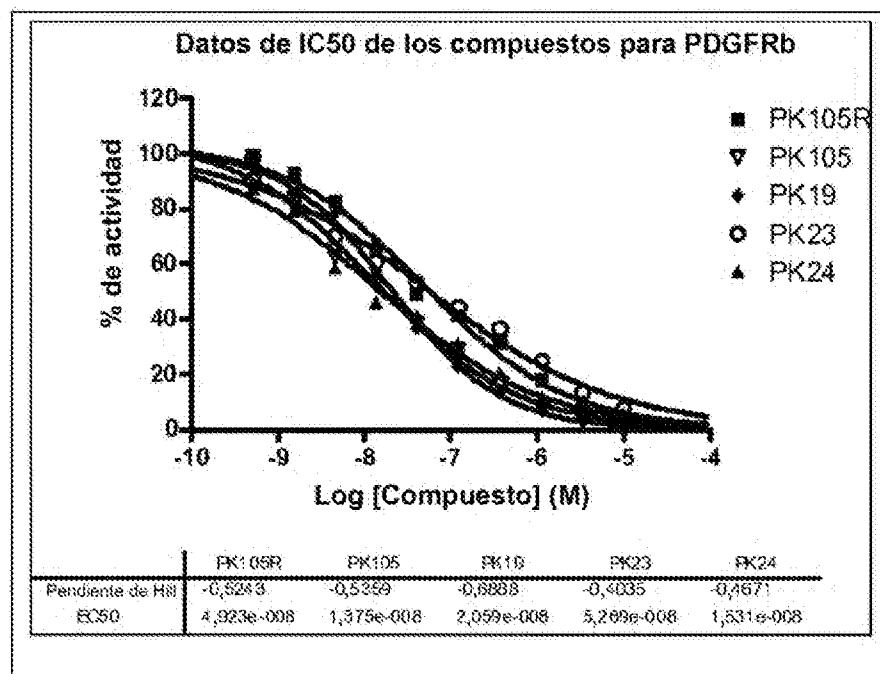


Figura 40

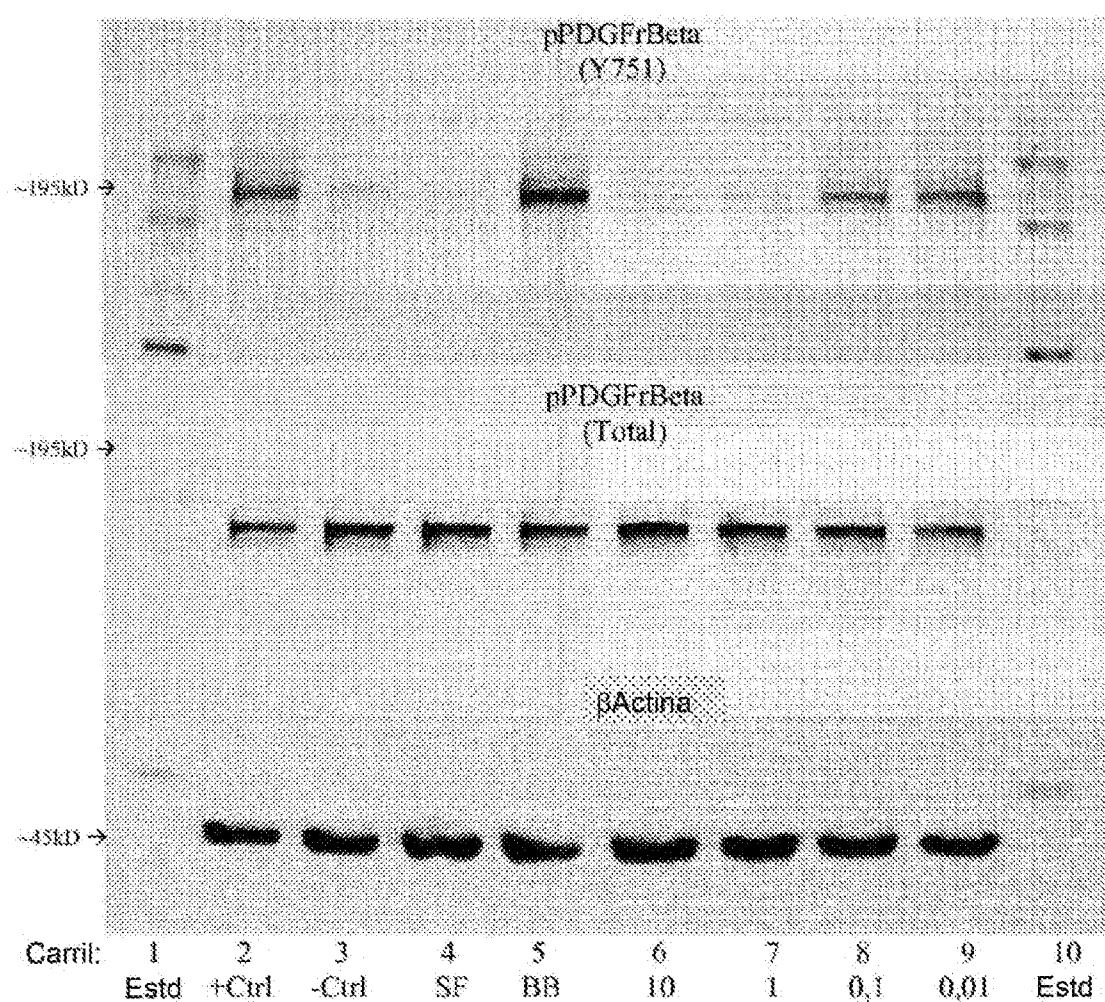
A

Figura 40

B

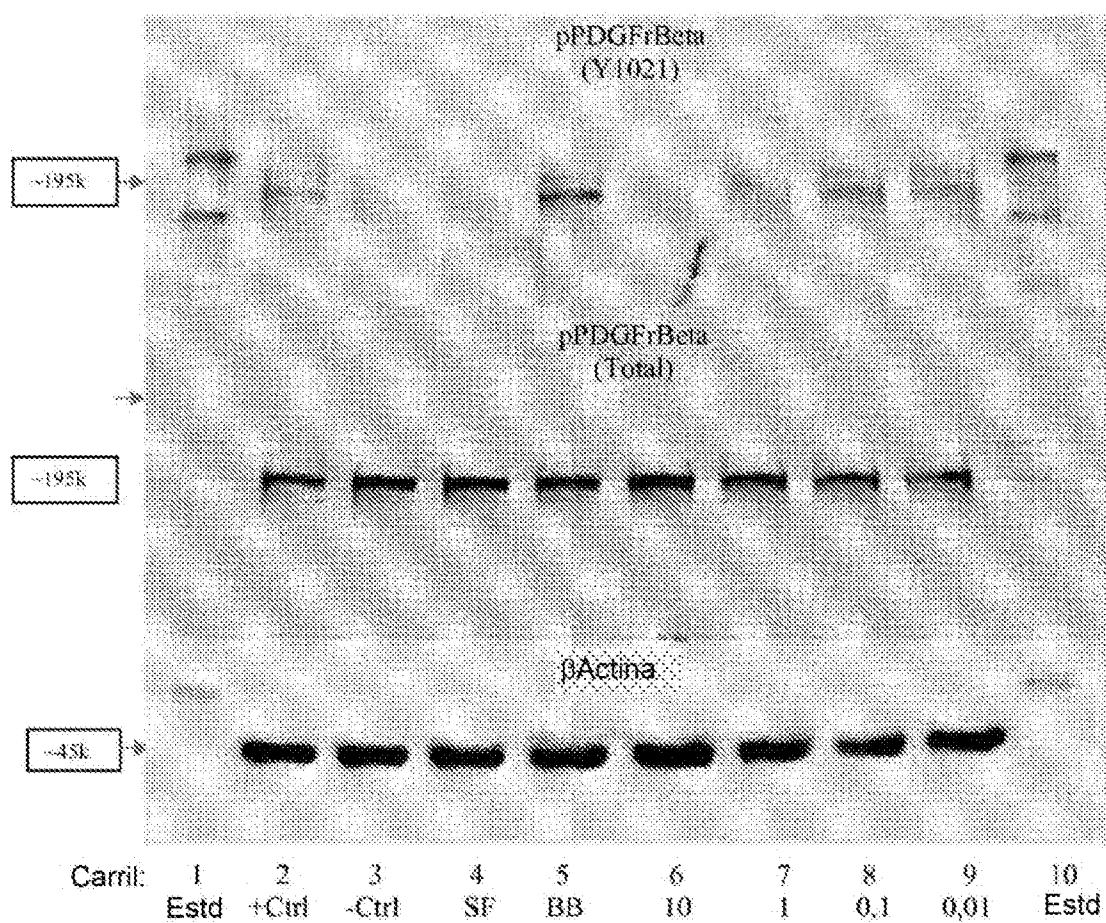


Figura 41

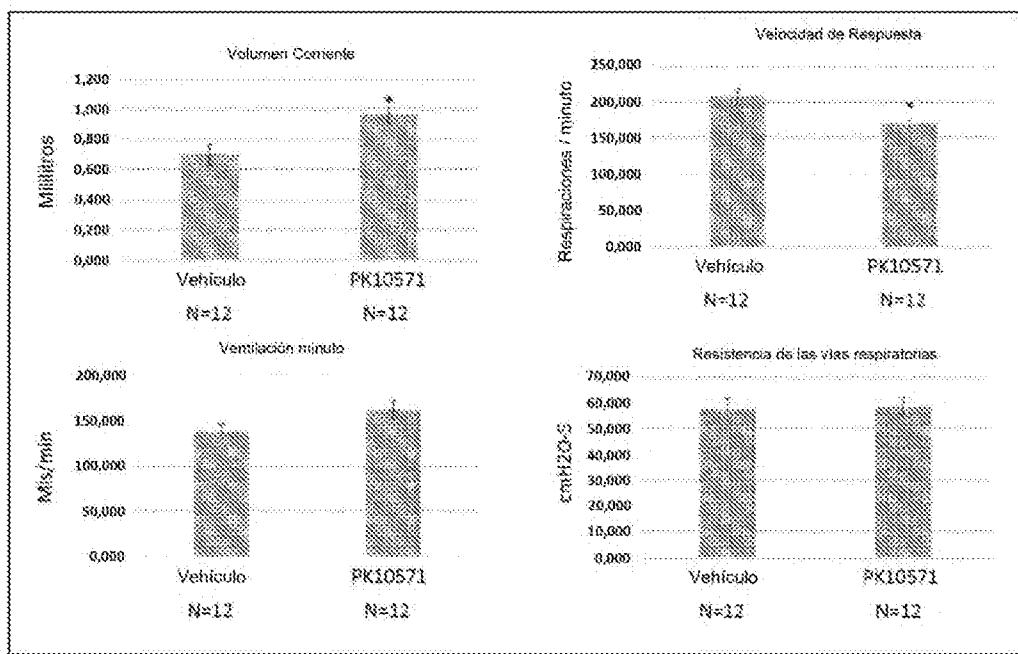


Figura 42

