

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 023 264**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2020 PCT/EP2020/084976**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.06.2021 WO21116055**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2020 E 20817377 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2025 EP 4073065**

54 Título: **Nuevos derivados de metilquinazolinona**

30 Prioridad:

10.12.2019 EP 19214941

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

30.05.2025

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.00%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**DOLENTE, COSIMO;
HEWINGS, DAVID STEPHEN;
HUNZIKER, DANIEL;
KRUMMENACHER, DANIELA;
PETTAZZONI, PIERGIORGIO FRANCESCO
TOMMASO y
WICHMANN, JUERGEN**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 3 023 264 T3

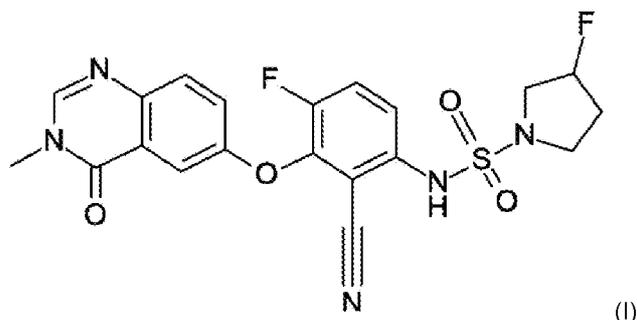
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Nuevos derivados de metilquinazolinona

5 La presente invención proporciona un nuevo compuesto, su fabricación, composiciones farmacéuticas que lo contienen y su uso como sustancia terapéuticamente activa. El compuesto de la invención es un inhibidor de BRAF y tiene propiedades de ruptura de paradoja.

10 La presente invención proporciona en particular un compuesto novedoso de fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La clase de serina-treonina cinasas de fibrosarcoma de crecimiento acelerado (RAF) comprende tres miembros (ARAF, BRAF, RAF1) que componen el primer nodo de la vía de señalización de la MAP cinasa. A pesar de la aparente redundancia de las tres isoformas de RAF en la propagación de la señalización a través de la fosforilación de MEK1 y 2, las mutaciones activadoras oncogénicas frecuentes se encuentran comúnmente solo para BRAF. En particular, la sustitución de V600 con ácido glutámico o lisina hace que la cinasa esté altamente activada con la
 20 consecuente hiperestimulación de la vía de la MAPK, independientemente de estimulaciones externas (Cell. 18 de junio de 2015; 161(7): 1681-1696).

BRAF mutante es un iniciador oncogénico dirigible y hasta ahora han llegado al mercado tres inhibidores de BRAF (vemurafenib, dabrafenib y encorafenib) que demuestran eficacia en el melanoma positivo para BRAFV600E. Sin embargo, la rápida adquisición de resistencia a fármacos se observa casi unánimemente y la duración de los beneficios terapéuticos para el tratamiento dirigido sigue siendo limitada.

Además, los inhibidores de BRAF desarrollados revelaron una capacidad inesperada y "paradójica" para reprimir la señalización de MAPK en tumores iniciados por BRAFV600E mientras que los mismos inhibidores presentaron actividades estimuladoras de MAPK en modelos naturales (WT) de BRAF (N Engl J Med 2012; 366:271-273; y British Journal of Cancer, volumen 111, páginas 640-645 (2014)).

Los estudios mecanicistas sobre la paradoja de RAF aclararon a continuación que BRAFV600E oncogénico fosforila MEK 1/2 en su forma citosólica monomérica, mientras que la activación de RAF1 y BRAF WT requiere una etapa compleja de acontecimientos que incluyen translocación de membrana celular y homo y/o heterodimerización promovida por RAS activado (KRAS, NRAS, HRAS) (Nature Reviews Cancer, volumen 14, páginas 455-467 (2014)).

La unión de inhibidores como vemurafenib, dabrafenib o encorafenib a un protómero de RAF1 o BRAF WT induce rápidamente homo y/o heterodimerización de RAF y la asociación a la membrana del dímero de RAF recién formado. En la conformación dimérica, un protómero de RAF induce alostéricamente cambios conformacionales del segundo, dando como resultado un estado activo de la cinasa y, de forma importante, una conformación desfavorable para la unión del inhibidor. El dímero inducido por tratamiento con fármaco, como resultado, promueve la fosforilación de MEK por la catálisis conducida por el protómero no unido con hiperactivación de la vía.

La paradoja de RAF da como resultado dos consecuencias clínicamente pertinentes: 1) crecimiento acelerado de tumores secundarios tras monoterapia con BRAFi (principalmente queratoacantoma y carcinomas de células escamosas) (N Engl J Med 2012; 366:271-273) y 2) la adquisición de resistencia a fármacos en el contexto de la monoterapia con BRAFi así como en combinaciones de BRAFi+MEKi presenta activación de señalización de RAF mediada por dímero por acontecimientos iniciados genéticamente que incluyen mutaciones de RAS, amplificaciones de BRAF, expresión de variantes de empalme de BRAF de acción dimérica (Nature Reviews Cancer volumen 14, páginas 455-467 (2014)). Existe, por tanto, la necesidad de inhibidores de RAF que puedan romper esa paradoja.

Además, los inhibidores de BRAF clásicos actualmente aprobados, vemurafenib (*Mol. Pharmaceutics* 2012, 9, 11,

3236-3245), dabrafenib (J Pharmacol Ex Ther 2013, 344 (3) 655-664) y encorafenib (Pharmacol Res. 2018; 129:414-423) tienen todos una permeabilidad cerebral muy deficiente. Esta es una limitación importante para el uso de los inhibidores de BRAF clásicos para el tratamiento del cáncer cerebral o las metástasis encefálicas. Existe, por tanto, la necesidad de inhibidores de BRAF que tengan una permeabilidad cerebral mejorada.

La presente invención se refiere al sorprendente hallazgo de que el inhibidor de BRAF de fórmula (I) es un inhibidor de BRAF más potente y selectivo que muestra considerablemente menos activación paradójica de la vía de señalización de MAPK mientras conserva una alta potencia. Este compuesto se puede denominar, por tanto, rompedor de paradoja ("*paradox breaker*") o rompedor de paradoja de RAF, a diferencia de los compuestos que inducen la paradoja de RAF (y que se podrían denominar inductores de paradoja o inductores de paradoja de RAF). Además de ser un rompedor de paradoja, el compuesto de fórmula (I) también tiene propiedades de penetración cerebral muy potentes, proporcionando, por tanto, un tratamiento alternativo urgentemente necesario para el tratamiento de cánceres en el cerebro.

Breve descripción de las figuras:

La **figura 1** divulga la curva de inhibición de P-ERK inducida por el ejemplo 1 en la línea celular mutante de BRAF A375.

La **figura 2** divulga la curva de inhibición de P-ERK inducida por el ejemplo 2 en la línea celular mutante de BRAF A375.

La **figura 3** divulga la curva de inhibición de P-ERK inducida por el compuesto de referencia AR-25 en la línea celular mutante de BRAF A375.

La **figura 4** divulga la curva de activación de P-ERK inducida por el ejemplo 1 en la línea celular de BRAF WT HCT-116. Para comparación, también se muestran los datos generados por el tratamiento con los compuestos de control dabrafenib (inductor de paradoja) y PLX-8394 (rompedor de paradoja).

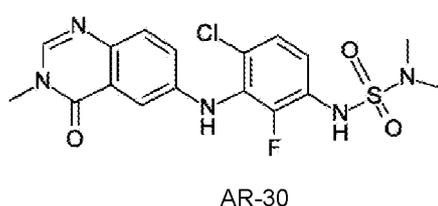
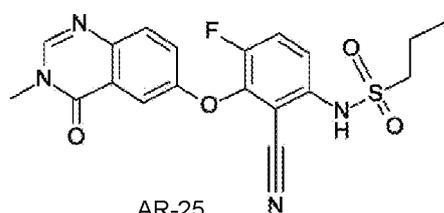
La **figura 5** divulga la curva de activación de P-ERK inducida por el ejemplo 2 en la línea celular de BRAF WT HCT-116. Para comparación, también se muestran los datos generados por el tratamiento con los compuestos de control dabrafenib (inductor de paradoja) y PLX-8394 (rompedor de paradoja).

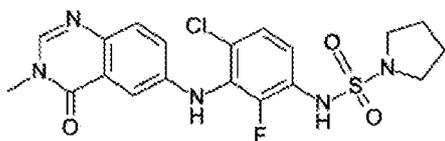
La **figura 6** divulga la curva de activación de P-ERK inducida por el compuesto de referencia AR-25 en la línea celular BRAF WT HCT-116. Para comparación, también se muestran los datos generados por el tratamiento con los compuestos de control dabrafenib (inductor de paradoja) y PLX-8394 (rompedor de paradoja).

La **figura 7** representa la activación paradójica de la vía de la MAP cinasa inducida por inhibidores de BRAF de primera generación. BRAF es parte del primer nodo de la vía de señalización de la MAP cinasa y BRAF mutante es un iniciador oncogénico (izquierda). En los tumores con mutación BRAF V600E/K, las señales de BRAF son como monómero, una condición en la que la proteína se inhibe por inhibidores de BRAF de primera generación (centro). Los inhibidores de BRAF de primera generación promueven la homo y/o heterodimerización de BRAF WT (arriba, derecha). En este contexto, el protómero no ocupado por el inhibidor de BRAF adquiere una conformación desfavorable para la unión del inhibidor (centro, derecha). El resultado del tratamiento con un inhibidor de BRAF de primera generación, en este contexto, es paradójicamente una activación de MAPK incrementada y el consecuente crecimiento tumoral en las células con BRAF WT (abajo, derecha).

La **figura 8** divulga que el ejemplo 1 de compuesto desencadenó una actividad antitumoral dependiente de la dosis comenzando a partir de 1 mg/kg diario, lo que evidencia una potente eficacia mediada por la permeabilidad cerebral.

El documento WO2012/118492 divulga los compuestos de referencia AR-25 como ejemplo 25, AR-30 como ejemplo 30 y AR-31 como ejemplo 31.





AR-31

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales del compuesto de fórmula (I) que conservan la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres o ácidos libres, que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Las sales se forman con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, en particular ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, N-acetilcisteína y similares. Además, estas sales se pueden preparar por adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas de una base inorgánica incluyen, pero no se limitan a, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, lisina, arginina, N-etilpiperidina, piperidina, poliiimina y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables particulares del compuesto de fórmula (I) son las sales clorhidrato, sales de ácido metanosulfónico y sales de ácido cítrico.

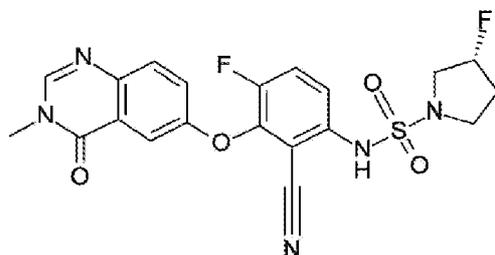
El compuesto de fórmula (I) contiene un centro asimétrico y puede estar presente en forma de enantiómeros ópticamente puros o mezclas de enantiómeros tales como, por ejemplo, racematos.

De acuerdo con la convención de Cahn-Ingold-Prelog, el átomo de carbono asimétrico puede tener la configuración "R" o "S".

También un modo de realización de la presente invención es el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en particular, el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) como se describe en el presente documento, más en particular, el compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) como se describe en el presente documento.

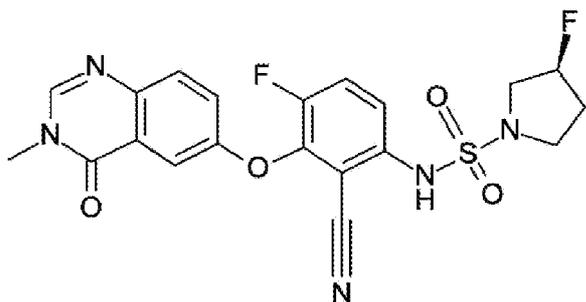
La invención también se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I), y en la que la sal farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar sales clorhidrato, sales de ácido metanosulfónico y sales de ácido cítrico.

También un modo de realización de la presente invención es el compuesto de acuerdo con la fórmula (Ia).



(Ia)

También un modo de realización de la presente invención es el compuesto de acuerdo con la fórmula (Ib).



(Ib)

Los procedimientos para la fabricación de los compuestos de fórmula (Ia) y (Ib) como se describe en el presente documento también son un objetivo de la invención.

5

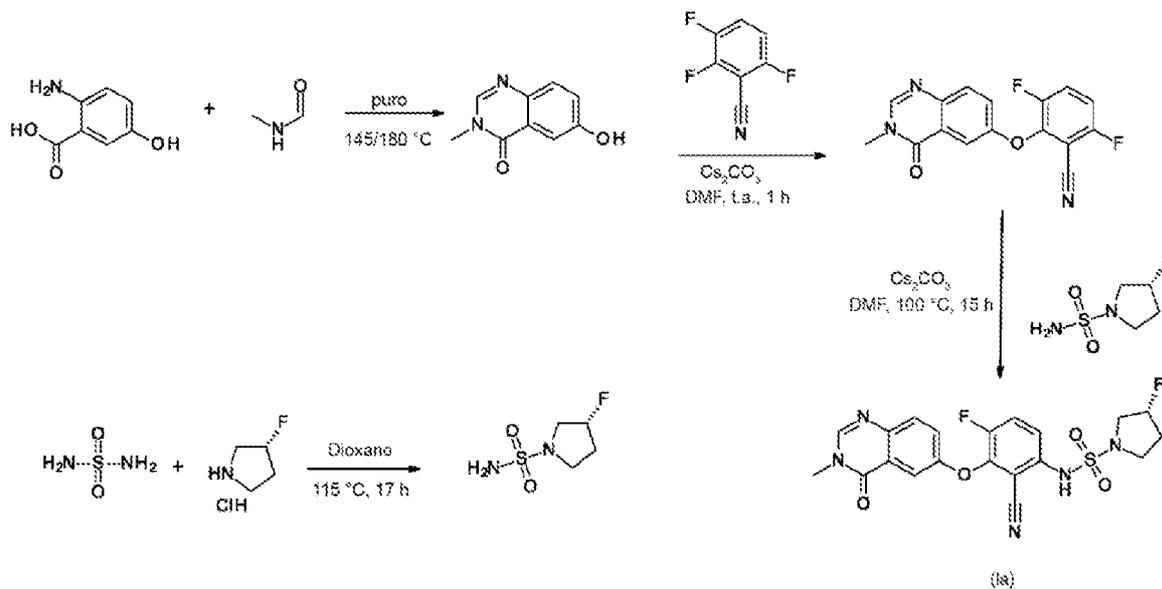
La preparación del compuesto de fórmula (I) de la presente invención se puede llevar a cabo en vías sintéticas secuenciales o convergentes. Las síntesis de la invención se muestran en el siguiente esquema general. Las habilidades requeridas para llevar a cabo las reacciones y purificaciones de los productos resultantes son conocidas para los expertos en la técnica.

10

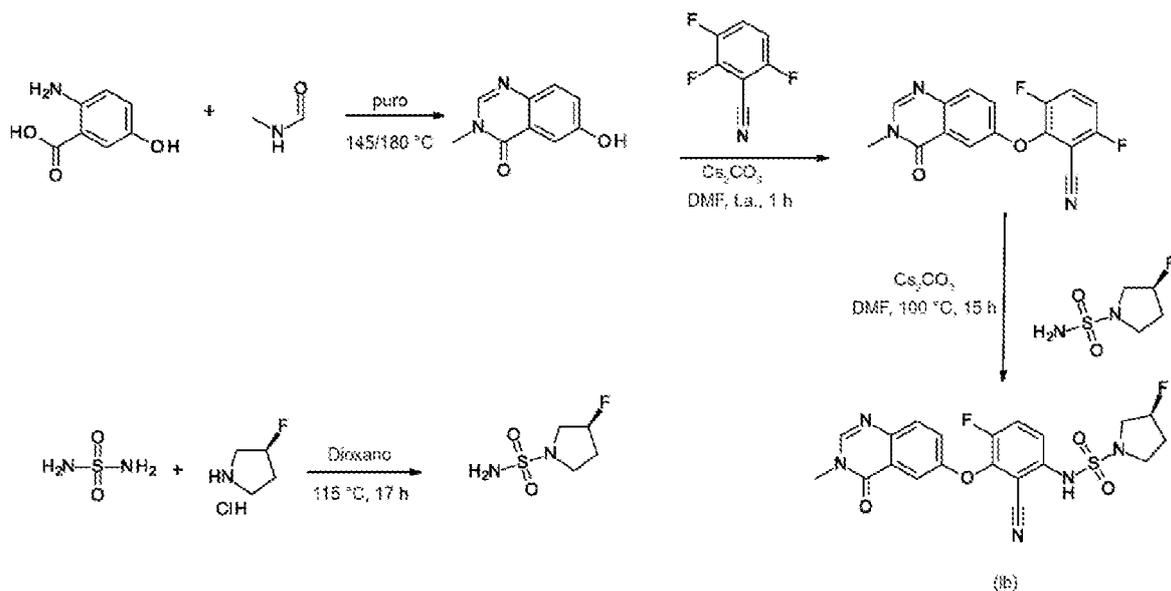
Con más detalle, el compuesto de fórmula (I) se puede fabricar por los procedimientos dados a continuación, por los procedimientos dados en los ejemplos o por procedimientos análogos. Las condiciones de reacción apropiadas para las etapas de reacción individuales son conocidas para un experto en la técnica. La secuencia de reacciones no se limita a la presentada en el esquema 1; sin embargo, dependiendo de los materiales de partida y su respectiva reactividad, se puede alterar libremente la secuencia de etapas de reacción. Los materiales de partida están disponibles comercialmente o bien se pueden preparar por procedimientos análogos a los procedimientos dados a continuación, por los procedimientos descritos en las referencias citadas en la descripción o en los ejemplos, o por procedimientos conocidos en la técnica.

15

Esquema 1

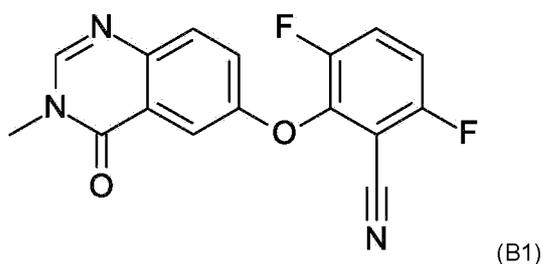


20

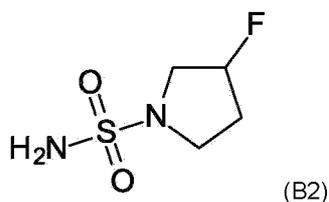


Se apreciará que el compuesto de fórmula (I) en la presente invención se puede derivatizar en grupos funcionales para proporcionar derivados que se pueden convertir de nuevo en el compuesto original *in vivo*.

5 Por tanto, la invención también se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de acuerdo con la invención, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (B1)



10 con un compuesto de fórmula (B2)



15 en presencia de una base.

La reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un disolvente. El disolvente puede ser, por ejemplo, DMF.

20 La reacción se puede llevar a cabo convenientemente en presencia de una base. La base puede ser, por ejemplo, carbonato de cesio.

25 Las condiciones convenientes para la reacción pueden ser entre alrededor de 30 °C y alrededor de 150 °C, en particular, entre alrededor de 50 °C y alrededor de 130 °C, más en particular, entre alrededor de 70 °C y alrededor de 120 °C. Las condiciones convenientes son alrededor de 100 °C durante entre alrededor de 1 h y alrededor de 48 h, en particular, entre alrededor de 2 h y alrededor de 20 h.

La invención también se refiere en particular a:

Un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo, para su uso como sustancia terapéuticamente activa;

Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo terapéuticamente inerte;

Un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o profilaxis del cáncer;

Un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o profilaxis de cáncer de tiroides, cáncer colorrectal, cáncer cerebral, melanoma o carcinoma de pulmón no microcítico (CPNM);

Un determinado modo de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del cáncer, en particular, cáncer iniciado por BRAF mutante, más en particular, cáncer de tiroides, cáncer colorrectal, cáncer cerebral, melanoma o CPNM.

Un determinado modo de realización de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un determinado modo de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso como medicamento en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un paciente con cánceres iniciados por BRAF mutante, en particular, cáncer de tiroides, cáncer colorrectal, cáncer cerebral, melanoma o CPNM que comprende determinar el estado de mutación de BRAF en dicho paciente y, a continuación, administrar el compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a dicho paciente.

Un determinado modo de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso como medicamento en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de metástasis encefálicas.

Además, la invención incluye todos los sustituyentes en su correspondiente forma deuterada, cuando sea aplicable, del compuesto de fórmula (I).

Además, la invención incluye todos los sustituyentes en su correspondiente forma tritiada, cuando sea aplicable, del compuesto de fórmula (I).

Un determinado modo de realización de la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que al menos un sustituyente comprende al menos un radioisótopo. Los ejemplos particulares de radioisótopos son ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C y ^{18}F .

Además, la invención incluye todos los isómeros ópticos, es decir, diastereoisómeros, mezclas diastereoméricas, mezclas racémicas, todos sus correspondientes enantiómeros y/o tautómeros, así como sus solvatos, cuando sea aplicable, del compuesto de fórmula (I).

Si se desea, las mezclas racémicas del compuesto de la invención se pueden separar de modo que se aislan los enantiómeros individuales. La separación se puede llevar a cabo por procedimientos bien conocidos en la técnica, tales como el acoplamiento de una mezcla racémica de compuestos a un compuesto enantioméricamente puro para formar una mezcla diastereomérica, seguido de la separación de los diastereómeros individuales por procedimientos estándar, tales como cristalización fraccionada o cromatografía.

En los modos de realización, donde se proporciona un enantiómero ópticamente puro, enantiómero ópticamente puro quiere decir que el compuesto contiene > 90 % del isómero deseado en peso, en particular, > 95 % del isómero deseado en peso o, más en particular, > 99 % del isómero deseado en peso, dicho porcentaje en peso basado en el peso total del isómero del compuesto. Se puede preparar un compuesto quiralmente puro o quiralmente enriquecido por síntesis quiralmente selectiva o por separación de enantiómeros. La separación de enantiómeros se puede llevar a cabo sobre el producto final o, de forma alternativa, sobre un intermedio adecuado.

Otro modo de realización de la invención proporciona una composición farmacéutica o medicamento que contiene un compuesto de la invención y un vehículo, diluyente o excipiente terapéuticamente inerte, así como un procedimiento de uso de los compuestos de la invención para preparar dicha composición y medicamento. En un ejemplo, el compuesto de fórmula (I) se puede formular mezclando a temperatura ambiente al pH apropiado y al grado de pureza deseado, con vehículos fisiológicamente aceptables, es decir, vehículos que no son tóxicos para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas en una forma de administración galénica. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y la concentración de compuesto, pero

preferentemente varía en cualquier valor de aproximadamente 3 a aproximadamente 8. En un ejemplo, un compuesto de fórmula (I) se formula en un tampón acetato, a pH 5. En otro modo de realización, el compuesto de fórmula (I) es estéril. El compuesto se puede almacenar, por ejemplo, como una composición sólida o amorfa, como una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

Las composiciones se formulan, dosifican y administran de una forma consecuente con la buena práctica médica. Los factores para su consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular que se está tratando, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de suministro del agente, el procedimiento de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los médicos.

Procedimientos de ensayo

Materiales

Se adquirió medio DMEM sin rojo fenol complementado con L-glutamina de (Thermo Fisher Scientific). Se adquirió suero fetal bovino (FBS) de VWR. Se adquirió el kit Advanced ERK phospho-T202 /Y204 - 10.000 pruebas, de Cisbio, n.º cat. 64AERPEH. Se obtuvieron originalmente células A375 y HCT116 de ATCC y se almacenaron por el repositorio de Roche. Se adquirieron microplacas de 384 pocillos de Greiner Bio-One, 384 pocillos (con tapa, HiBase, bajo volumen, cat. 784-080).

Ensayo HTRF para la determinación de P-ERK en células A375 o HCT116

A375 es un modelo de cáncer celular que expresa BRAF con mutación V600E y HCT116 un modelo de cáncer celular que expresa BRAF WT. Los inhibidores de BRAF de primera generación tales como, por ejemplo, dabrafenib, inducen un efecto de paradoja sobre células tumorales, ya que inhiben el crecimiento de células con BRAF con mutación V600E (tal como, por ejemplo, A375), mientras que activan el crecimiento de células con BRAF WT (tal como, por ejemplo, HCT 116). A continuación en el presente documento se informa de la fosforilación de ERK 1,2 (miembro terminal de la cascada de fosforilación de la vía de la MAPK) como la lectura principal para el estado de activación de la vía de la MAPK. Antes del ensayo, las líneas celulares A375 y HCT116 se mantienen en medio DMEM sin rojo fenol complementado con suero fetal bovino al 10 % (FBS). Tras el tratamiento con compuesto, se determinan los niveles de P-ERK midiendo la señal de fluorescencia FRET inducida por la unión selectiva de 2 anticuerpos proporcionados en el kit mencionado (Cisbio n.º cat. 64AERPEH) en la proteína ERK cuando se fosforila en Thr202/Tyr204. En resumen, se siembran 8000 células/pocillo en 12 µl de medio/pocillo en la placa de 384 pocillos y se dejan durante la noche en la estufa incubadora (a 37 °C con una atmósfera humidificada con CO₂ al 5 %); al día siguiente, se trata la placa por duplicado con compuestos de prueba, dabrafenib y PLX8394 (los dos últimos como controles) en las siguientes concentraciones de fármaco finales: 10 µM-3 µM-1 µM-0,3 µM-0,1 µM-0,03 µM-0,01 µM-0,003 µM-0,001 µM, todos los pocillos se someten a normalización con DMSO y se produce incubación de fármaco durante 1 hora. A continuación, se añaden 4 µl de un tampón de lisis 4X suministrado con el kit a los pocillos, a continuación, se centrifuga la placa durante 30 segundos (300 ref.) y se incuba en un agitador de placa durante 1 h a TA.

Al final de la incubación, se añaden 4 µl/pocillo de solución de anticuerpo para P-ERK avanzado (preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante) seguido de 4 µl/pocillo de solución de anticuerpo para P-ERK con criptato (preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante) (Cisbio n.º cat. 64AERPEH) a los pocillos de prueba.

Para permitir la apropiada normalización de datos, los pocillos de control no tratados con fármaco que se informan en la siguiente tabla se incluyen siempre en cada placa (de acuerdo con las instrucciones del fabricante):

Composiciones de pocillo de p-ERK por HTRF (µl):

ctrl. neg.	ctrl. pos.	ctrl. neut.	comp.	blanco	
-	-	12	12	12	Células
12	-	-	-	-	Medio
-	-	-	<0,05	-	Comp.
-	16	-	-	-	lisado de control (listo para usar)
4	-	4	4	4	tampón de lisis 4x
4	4	4	4	-	Solución de anticuerpo para p-ERK avanzado
-	-	-	-	4	Sol. de anticuerpo con criptato para p-ERK1/2 avanzado
20	20	20	20	20	Volumen total en pocillo

ES 3 023 264 T3

A continuación, se centrifuga la placa a 300 rcf durante 30 segundos, se cierra herméticamente para evitar la evaporación y se incuba durante la noche en la oscuridad a temperatura ambiente.

5 A continuación, se analiza la placa y se recopila el valor de emisión de fluorescencia a través de un aparato Pherastast FSX (BMG Labtech) a 665 y 620 nM.

Se procesan los valores de fluorescencia obtenidos de acuerdo con la fórmula $\text{Proporción} = \text{Señal (620 nm)} / \text{Señal (625 nm)} * 10000$, a continuación, se resta el promedio de la proporción en el blanco para todos los valores.

10 Se normalizan los datos en el caso de células A375 (inhibición de BRAF) considerando el promedio de la proporción (blanco restado) derivada por células tratadas solo con DMSO como el 100 % y considerando el promedio de la proporción (blanco restado) derivada por células tratadas con dabrafenib 10 μM como el 0 %. Se ajusta la media de los puntos normalizados con la curva sigmoidea y se determina la CI_{50} . Los resultados se muestran en las tablas 1-2 y en las figuras 1-3.

15 Se normalizan los datos en el caso de células HCT116 (activación de BRAF) considerando el promedio de la proporción (blanco restado) derivada por células tratadas solo con DMSO como el 0 % y considerando el promedio de la proporción (blanco restado) derivada por células tratadas con dabrafenib a la concentración que proporciona la mayor señal como el 100 %. Se ajustan los puntos individuales con curvas sigmoideas o bien en forma de campana y se determina el porcentaje de activación en comparación con la activación mediada por dabrafenib máxima. La CE_{50} es la concentración a la que se obtiene una activación igual a un 50 % de la máxima alcanzada por dabrafenib. Los resultados se muestran en la tabla 2 y en las figuras 4-6.

20 En caso de que la activación no alcance un 50 % del máximo logrado por dabrafenib, entonces el cálculo de CE_{50} no es aplicable.

25 El porcentaje del efecto inductor de paradoja máximo de dabrafenib se determina evaluando el porcentaje en el que el compuesto de prueba induce su señal de P-ERK máxima como porcentaje de la mayor señal producida por dabrafenib dentro del intervalo de dosis sometido a prueba.

30

Ej.	Kd (μM)				
	BRAF	BRAF V600E	CRAF	CSK	LCK
1	0,0006	0,0012	0,0017	23,3	40
2	0,0013	0,0009	0,0012	9,16	20,12
AR-25	0,0001	0,0002	0,0003	>40	>40
AR-30	0,1740	0,5040	0,8220	8,007	10,352
AR-31	0,0459	0,1190	0,1903	1,208	11,975

Tabla 1: el ejemplo 1 y el ejemplo 2 tienen alta afinidad por las cinasas RAF y alta selectividad sobre la cinasa Src C terminal (CSK) y la proteína tirosina cinasa específica de linfocitos (LCK), en comparación con AR-30 y AR-31.

Ej.	pERK CI_{50} (nM)	CE50 de p-ERK (nM) conc. (nM) a la que el compuesto induce la activación de p-ERK de un 50 % de la inducida por dabrafenib (inductor de paradoja de control positivo)	
		A375	HCT-116
1	6,9	no aplicable	43,65 %
2	10,6	no aplicable	46,2 %

AR-25	1,1	9,6	103 %
AR-30	406	>1000	59 %
AR-31	311	>1000	51,2 %

Tabla 2: el ejemplo 1 y el ejemplo 2 rompen la activación de RAF paradójica en células cancerosas HCT-116 que expresan BRAF WT. En comparación con dabrafenib o con AR-25, el efecto inductor de paradoja máximo se reduce a menos de un 50 %.

5

Medición de $K_{p,uu}$ de LCR para evaluar el potencial de penetración cerebral

10

La $K_{p,uu}$ de LCR es la proporción de la concentración en el líquido cefalorraquídeo (LCR): la exposición plasmática al fármaco libre y los valores de $K_{p,uu} \geq 1$ indican buena penetración cerebral. Para estudios de dosis orales únicas en ratones y ratas del ejemplo 1 de compuesto, se midieron concentraciones plasmáticas y en LCR secuenciales (hasta 24 h después de la dosis) por CL-EM/EM para calcular la $K_{p,uu}$ de LCR. Para estudios de dosis orales múltiples en ratas y cerdos enanos, se midieron las concentraciones plasmáticas y en LCR que se aproximan a $T_{m\acute{a}x}$ (3 h después de la última dosis) por CL-EM/EM y se usaron para calcular la $K_{p,uu}$ de LCR.

	Valor	Clase
Peso molecular/área de superficie polar	461 / 99	-
BCS (sistema de clasific. biofarmacéutica)	-	2
*Proporción de salida apical de P-gp	1,5	Baja
Unión a proteína plasmática (%) (ratón, rata, cerdo enano, mono, ser humano)	≥ 99	Muy alta
$K_{p,uu}$ de LCR de ratón Dosis oral única de 10 mg/kg	≥ 1	Alta
$K_{p,uu}$ de LCR de rata Dosis oral única de 20 mg/kg	≥ 1	Alta
$K_{p,uu}$ de LCR de rata Dosificación oral múltiple a 300 mg/kg/día (DRF de 2 semanas)	≥ 1	Alta
$K_{p,uu}$ de LCR de cerdo enano Dosificación oral múltiple a 300 mg/kg/día (DRF de 2 semanas)	≥ 1	Alta

15

Línea celular LLC-PK1 transfectada con MDR1, evaluada en presencia/ausencia de inhibidor de P-gp

20

Tabla 3: propiedades fisicoquímicas y ADME del ejemplo 1 de compuesto. Los valores de $K_{p,uu}$ de LCR ≥ 1 indican buena penetración cerebral para el ejemplo 1. Además, se evaluó la relación temporal del plasma y el LCR hasta 24 h después de la dosis en el estudio farmacocinético (FC) de dosis única en ratas e indicó una distribución rápida y amplia en el LCR.

A375-Luc implantada intracranealmente

25

Se inyectaron intracranealmente células cancerosas A375 BRAF V600E que expresan constitutivamente luciferasa en ratones inmunodeficientes. El tratamiento con el ejemplo 1 de compuesto se inició el día 7 a partir de la inyección intracraneal y continuó durante 2 semanas. Los diferentes grupos se sometieron a una administración oral diaria de 1 mg/kg, 5 mg/kg y 20 mg/kg del ejemplo 1, respectivamente. Los resultados se muestran en la figura 8.

30

5 El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede usar como medicamento (por ejemplo, en forma de una preparación farmacéutica). La preparación farmacéutica se puede administrar por vía interna, tal como por vía oral (por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones), por vía nasal (por ejemplo, en forma de pulverizaciones nasales), por vía rectal (por ejemplo, en forma de supositorios) o por vía ocular tópica (por ejemplo, en forma de soluciones, pomadas, geles o insertos poliméricos solubles en agua). Sin embargo, la administración también se puede efectuar por vía parenteral, tal como por vía intramuscular, intravenosa o intraocular (por ejemplo, en forma de soluciones inyectables estériles).

10 El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede procesar con adyuvantes inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes para la producción de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura, soluciones inyectables o formulaciones tópicas. Se puede usar, por ejemplo, lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco, ácido esteárico o sus sales, etc., como dichos adyuvantes para comprimidos, grageas y cápsulas de gelatina dura.

15 Los adyuvantes adecuados para cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, sustancias semisólidas y polioles líquidos, etc.

20 Los adyuvantes adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, etc.

Los adyuvantes adecuados para soluciones inyectables son, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales, etc.

25 Los adyuvantes adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o hidrogenados, ceras, grasas, polioles semisólidos o líquidos, etc.

Los adyuvantes adecuados para formulaciones oculares tópicas son, por ejemplo, ciclodextrinas, manitol o muchos otros vehículos y excipientes conocidos en la técnica.

30 Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizantes, sustancias que incrementan la viscosidad, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de enmascaramiento o antioxidantes. También pueden contener todavía otras sustancias terapéuticamente valiosas.

35 La dosificación puede variar en límites amplios y, por supuesto, se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular. En general, en el caso de administración oral, debería ser apropiada una dosificación diaria de aproximadamente 0,1 mg a 20 mg por kg de peso corporal, preferentemente de aproximadamente 0,5 mg a 4 mg por kg de peso corporal (por ejemplo, aproximadamente 300 mg por persona), dividida en preferentemente 1-3 dosis individuales, que pueden consistir, por ejemplo, en las mismas cantidades. En el caso de administración tópica, la formulación puede contener de un 0,001 % a un 15 % en peso de medicamento y la dosis requerida, que puede estar entre 0,1 y 25 mg, se puede administrar en dosis única por día o por semana, o bien en múltiples dosis (de 2 a 4) por día, o en múltiples dosis por semana. Sin embargo, quedará claro que el límite superior o inferior dado en el presente documento se puede exceder cuando se muestra que esto está indicado.

45 **Composiciones farmacéuticas**

50 El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede usar como sustancia terapéuticamente activa, por ejemplo, en forma de una preparación farmacéutica. La preparación farmacéutica se puede administrar por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones. Sin embargo, la administración también se puede efectuar por vía rectal, por ejemplo, en forma de supositorios, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones inyectables.

55 El compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo se pueden procesar con uno o más vehículos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes para la producción de una preparación farmacéutica. Se puede usar lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco, ácidos esteáricos o sus sales y similares, por ejemplo, como dichos vehículos para comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas y cápsulas de gelatina dura. Los vehículos adecuados para cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, polioles semisólidos y líquidos y similares. Sin embargo, dependiendo de la naturaleza de la sustancia activa, normalmente no se requieren vehículos en el caso de cápsulas de gelatina blanda. Los vehículos adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, glicerol, aceite vegetal y similares. Los vehículos adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o hidrogenados, ceras, grasas, polioles semilíquidos o líquidos y similares.

65 Además, la preparación farmacéutica puede contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales

como conservantes, solubilizantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de enmascaramiento o antioxidantes. También pueden contener todavía otras sustancias terapéuticamente valiosas.

5 Los medicamentos que contienen el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo terapéuticamente inerte también se proporcionan por la presente invención, ya que es un procedimiento para su producción, que comprende introducir uno o más compuestos de fórmula (I) y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y, si se desea, una o más de otras sustancias terapéuticamente valiosas en una forma de administración galénica conjuntamente con uno o más vehículos terapéuticamente inertes.

10 La dosificación puede variar dentro de límites amplios y, por supuesto, se tendrá que ajustar a los requisitos individuales en cada caso particular. En el caso de administración oral, la dosificación para adultos puede variar de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg por día de un compuesto de fórmula general (I) o de la correspondiente cantidad de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La dosificación diaria se puede administrar como dosis única o en dosis divididas y, además, el límite superior también se puede exceder cuando se encuentre que esto está indicado.

15 Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención sin limitarla, pero sirven meramente como representativos de la misma. Las preparaciones farmacéuticas convenientemente contienen aproximadamente 1-500 mg, en particular 1-100 mg, de un compuesto de fórmula (I). Los ejemplos de composiciones de acuerdo con la invención son:

25 **Ejemplo A**

Se fabrican comprimidos de la siguiente composición de la manera normal:

ingrediente	mg/comprimido			
	5	25	100	500
Compuesto de fórmula (I)	5	25	100	500
Lactosa anhidra DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
Celulosa microcristalina	30	30	30	450
Estearato de magnesio	1	1	1	1
Total	167	167	167	831

30 Tabla 4: posible composición de comprimido

Procedimiento de fabricación

1. Mezclar los ingredientes 1, 2, 3 y 4 y granular con agua purificada.
- 35 2. Secar los gránulos a 50 °C.
3. Pasar los gránulos a través de un equipo de molienda adecuado.
- 40 4. Añadir el ingrediente 5 y mezclar durante tres minutos; comprimir en una prensa adecuada.

Ejemplo B-1

Se fabrican cápsulas de la siguiente composición:

ingrediente	mg/cápsula			
	5	25	100	500
Compuesto de fórmula (I)	5	25	100	500

ES 3 023 264 T3

Lactosa hidratada	159	123	148	-
Almidón de maíz	25	35	40	70
Talco	10	15	10	25
Estearato de magnesio	1	2	2	5
Total	200	200	300	600

Tabla 5: posible composición de ingredientes de cápsula

Procedimiento de fabricación

5

1. Mezclar los ingredientes 1, 2 y 3 en una mezcladora adecuada durante 30 minutos.

2. Añadir los ingredientes 4 y 5 y mezclar durante 3 minutos.

10

3. Llenar en una cápsula adecuada.

En primer lugar, se mezclan el compuesto de fórmula (I), lactosa y almidón de maíz en una mezcladora y, a continuación, en una máquina trituradora. Se devuelve la mezcla a la mezcladora; se añade el talco a la misma y se mezcla minuciosamente. Se llena la mezcla por máquina en cápsulas adecuadas, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura.

15

Ejemplo B-2

Se fabrican cápsulas de gelatina blanda de la siguiente composición:

20

ingrediente	mg/cápsula
Compuesto de fórmula (I)	5
Cera amarilla	8
Aceite de soja hidrogenado	8
Aceites vegetales parcialmente hidrogenados	34
Aceite de soja	110
Total	165

Tabla 6: posible composición de ingredientes de cápsula de gelatina blanda

ingrediente	mg/cápsula
Gelatina	75
Glicerol al 85 %	32
Karion 83	8 (materia seca)
Dióxido de titanio	0,4
Óxido de hierro amarillo	1,1
Total	116,5

25

Tabla 7: posible composición de cápsula de gelatina blanda

Procedimiento de fabricación

Se disuelve el compuesto de fórmula (I) en una fusión caliente de los otros ingredientes y se llena la mezcla en cápsulas de gelatina blanda de tamaño apropiado. Se tratan las cápsulas de gelatina blanda llenas de acuerdo con los procedimientos normales.

5 Ejemplo C

Se fabrican supositorios de la siguiente composición:

ingrediente	mg/sup.
Compuesto de fórmula (I)	15
Masa de supositorio	1285
Total	1300

10 Tabla 8: posible composición de supositorio

Procedimiento de fabricación

15 Se funde la masa de supositorio en un recipiente de vidrio o acero, se mezcla minuciosamente y se enfría hasta 45 °C. Tras esto, se añade el compuesto de fórmula (I) en polvo fino a la misma y se agita hasta que se ha dispersado por completo. Se vierte la mezcla en moldes de supositorio de tamaño adecuado, se deja enfriar; a continuación, se retiran los supositorios de los moldes y se envasan individualmente en papel encerado o lámina metálica.

20 Ejemplo D

Se fabrican soluciones inyectables de la siguiente composición:

ingrediente	mg/solución inyectable
Compuesto de fórmula (I)	3
Polietilenglicol 400	150
ácido acético	c.s. hasta pH 5,0
agua para soluciones inyectables	hasta 1,0 ml

25 Tabla 9: posible composición de solución inyectable

Procedimiento de fabricación

30 Se disuelve el compuesto de fórmula (I) en una mezcla de polietilenglicol 400 y agua para inyectables (parte). Se ajusta el pH hasta 5,0 por ácido acético. Se ajusta el volumen hasta 1,0 ml por adición de la cantidad residual de agua. Se filtra la solución, se llena en viales usando un excedente apropiado y se esteriliza.

Ejemplo E

35 Se fabrican sobres de la siguiente composición:

ingrediente	mg/sobre
Compuesto de fórmula (I)	50
Lactosa, polvo fino	1015
Celulosa microcristalina (AVICEL PH 102)	1400
Carboximetilcelulosa de sodio	14
Polivinilpirrolidona K 30	10

Estearato de magnesio	10
Aditivos saborizantes	1
Total	2500

Tabla 10: posible composición de sobre

Procedimiento de fabricación

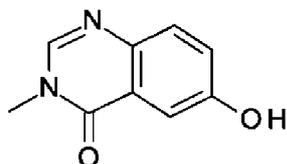
5 Se mezcla el compuesto de fórmula (I) con lactosa, celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio y se granula con una mezcla de polivinilpirrolidona en agua. Se mezcla el granulado con estearato de magnesio y los aditivos saborizantes y se llenan en sobres.

Ejemplos

Abreviaturas

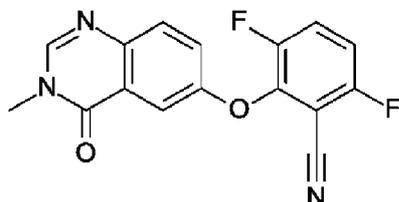
15 DCM = diclorometano; DMF = dimetilformamida; DMSO = diemilsulfóxido; DRF = hallazgo de intervalo de dosis; ESI = ionización por electronebulización; EtOAc = acetato de etilo; CL-EM/EM = cromatografía de líquidos-EM/EM; MeOH = metanol; EM = espectrometría de masas; t.a. = temperatura ambiente; P-gp = glucoproteína P; SFC = cromatografía de fluidos supercríticos.

20 Se prepararon los compuestos de referencia AR-25, AR-30 y AR-31 de acuerdo con la síntesis divulgada en el documento WO2012/118492 en el ejemplo 25, el ejemplo 30 y el ejemplo 31, respectivamente.

6-hidroxi-3-metil-quinazolin-4-ona

25 Se calentaron ácido 2-amino-5-hidroxibenzoico (10 g, 65,3 mmol, eq: 1,0) y *N*-metilformamida (30 g, 29,9 ml, 503 mmol, eq: 7,7) a 145 °C durante 21 h 45 min, a continuación se enfrió hasta t.a. Se diluyó la mezcla de reacción con 50 ml de H₂O y se agitó a t.a. durante 20 min. Se recogió el precipitado resultante por filtración. Se lavó el sólido marrón claro 3 x con 20 ml de agua. Se tomó el sólido en tolueno y se evaporó hasta sequedad (3 x). Se secó el sólido a vacío a 40 °C durante la noche a alto vacío para dar el compuesto del título como un sólido marrón claro (10,3 g, rendimiento de un 89 %). EM (ESI) *m/z*: 177,1 [M+H]⁺.

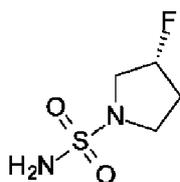
30

3,6-difluoro-2-(3-metil-4-oxo-quinazolin-6-il)oxi-benzonitrilo

35 Se añadió carbonato de cesio (3,22 g, 9,79 mmol, eq: 1,15) a t.a. a una solución de 6-hidroxi-3-metilquinazolin-4-ona (1500 mg, 8,51 mmol, eq: 1,0) en *N,N*-dimetilformamida (35 ml). Se agitó la mezcla durante 30 min a t.a., a continuación se añadió 2,3,6-trifluorobenzonitrilo (1,47 g, 1,08 ml, 9,37 mmol, eq: 1,1). Después de 1 h, se enfrió la reacción en hielo y se diluyó con agua (120 ml). Se recogió el sólido resultante por filtración, se lavó con agua helada (100 ml) y heptano (100 ml) y se secó por succión. Se tomó el sólido en tolueno y se evaporó hasta sequedad (3 x), a continuación se secó durante la noche a vacío para dar el compuesto del título como un sólido marrón claro (2,58 g, rendimiento de un 97 %). EM (ESI) *m/z*: 314,1 [M+H]⁺.

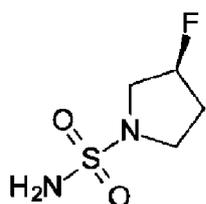
40

(3*R*)3-fluoropirrolidin-1-sulfonamida



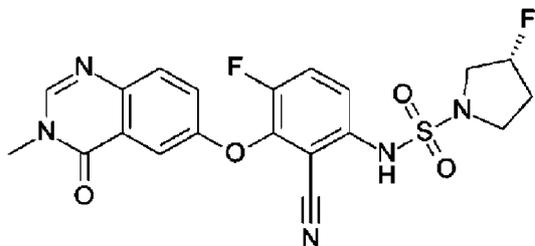
Se añadió clorhidrato de (*R*)-3-fluoropirrolidina (1,8 g, 14,3 mmol, eq: 1,2) a una solución de diamida sulfúrica (1,148 g, 11,9 mmol, eq: 1,0) y trietilamina (2,42 g, 3,33 ml, 23,9 mmol, eq: 2) en dioxano (10 ml). Se agitó la reacción en un tubo cerrado herméticamente a 115 °C durante 15,5 h, a continuación se enfrió hasta t.a. y se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con DCM, se evaporó con gel de sílice hasta sequedad y se transfirió a una columna. La purificación por cromatografía ultrarrápida (40 g de sílice, EtOAc al 80 %) dio el compuesto del título como un sólido cristalino blanco (1,82 g, rendimiento de un 91 %). EM (ESI) *m/z*: 169,1 [M+H]⁺.

10 (3*S*)-3-fluoropirrolidin-1-sulfonamida



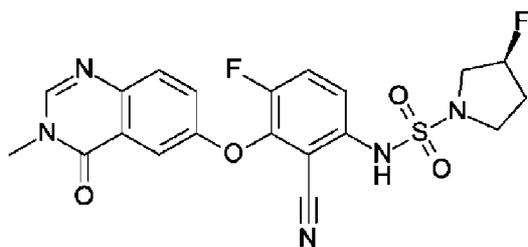
Se añadió trietilamina (304 mg, 419 µl, 3,01 mmol, eq: 2,0) a una suspensión de diamida sulfúrica (146 mg, 1,5 mmol, eq: 1,0) y clorhidrato de (*S*)-3-fluoropirrolidina (234 mg, 1,8 mmol, eq: 1,2) en dioxano (1,3 ml). Se agitó la reacción en un tubo cerrado herméticamente a 115 °C durante 16 h 35 min, a continuación se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con MeOH y se evaporó con gel de sílice hasta sequedad y se transfirió a una columna. La purificación por cromatografía ultrarrápida (40 g de sílice, MeOH al 0-8 %/DCM) dio el compuesto del título como un sólido amarillo claro (193 mg, rendimiento de un 75 %). EM (ESI) *m/z*: 169,1 [M+H]⁺.

20 (3*R*)-*N*-[2-ciano-4-fluoro-3-(3-metil-4-oxo-quinazolin-6-il)oxi-fenil]-3-fluoro-pirrolidin-1-sulfonamida (ejemplo 1)



Se suspendieron (*R*)-3-fluoropirrolidin-1-sulfonamida (1,26 g, 7,51 mmol, eq: 2,1) y carbonato de cesio (2,56 g, 7,87 mmol, eq: 2,2) en DMF seca (10,2 ml) bajo una atmósfera de argón. Se agitó la reacción a 50 °C durante 30 min. Se enfrió la mezcla de reacción hasta t.a. y se añadió una solución de 3,6-difluoro-2-((3-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-6-il)oxi)benzonitrilo (1,12 g, 3,58 mmol, eq: 1,0) en DMF (25,5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 100 °C durante 15 h, a continuación se concentró a vacío. Se tomó el residuo en NH₄Cl ac. sat. (100 ml) y EtOAc (100 ml). Se separaron las fases y se extrajo la capa acuosa además con 2 x 100 ml de EtOAc. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (200 ml) y salmuera (200 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío. Se volvió a extraer la capa acuosa con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (200 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con DCM y MeOH y se concentró sobre sílice. La purificación por cromatografía ultrarrápida (120 g, MeOH al 0,5-2 %/DCM) dio un sólido blanquecino que se trituró con heptano/DCM 1:1 (20 ml) con ultrasonido, a continuación se secó a vacío para dar el compuesto del título como un sólido incoloro (1,087 g, rendimiento de un 66 %). EM (ESI) *m/z*: 426,2 [M+H]⁺. SFC quiral: TR = 4,594 min [columna Chiralpak IC, 4,6 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 µm (Daicel); gradiente de MeOH al 20 - 40 % que contiene NH₄Et₂ al 0,2 % durante 8 min; flujo: 2,5 ml/min; contrapresión de 140 bar].

40 (3*S*)-*N*-[2-ciano-4-fluoro-3-(3-metil-4-oxo-quinazolin-6-il)oxi-fenil]-3-fluoro-pirrolidin-1-sulfonamida (ejemplo 2)

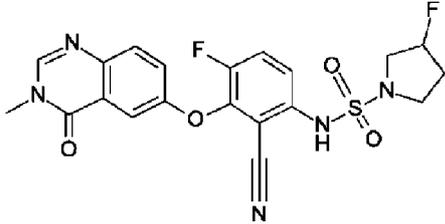


Se disolvió (S)-3-fluoropiperidin-1-sulfonamida (181 mg, 1,08 mmol, eq: 2,1) en DMF (1,6 ml). A t.a. se añadió carbonato de cesio (368 mg, 1,13 mmol, eq: 2,2) y se agitó la mezcla de reacción a 50 °C durante 30 min. Se enfrió la mezcla de reacción hasta t.a. y se añadió una solución de 3,6-difluoro-2-((3-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-6-il)oxi)benzonitrilo (160,8 mg, 513 μmol, eq: 1,0) en DMF (4 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 105 °C durante 2 h 50 min, a continuación se concentró a vacío. Se tomó el residuo en DCM y se lavó con NH₄Cl ac. sat. Se volvió a extraer la capa ac. dos veces con DCM. Se secaron las capas orgánicas combinadas sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. Se diluyó el residuo (aceite marrón) con DCM y se transfirió a una columna. La purificación por cromatografía ultrarrápida (80 g, EtOAc al 0-100 % en DCM) dio un sólido que se purificó además por SFC para dar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (119 mg, rendimiento de un 50 %). EM (ESI) *m/z*: 426,2 [M+H]⁺. SFC quiral: TR = 4,411 min [columna Chiralpak IC, 4,6 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 μm (Daicel); gradiente de MeOH al 20 - 40 % que contiene NH₄Et₂ al 0,2 % durante 8 min; flujo: 2,5 ml/min; contrapresión de 140 bar].

REIVINDICACIONES

1. El compuesto de fórmula (I)

5



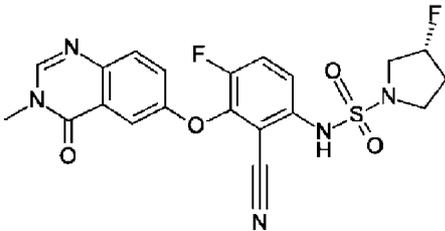
(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es el compuesto de fórmula (I).

10

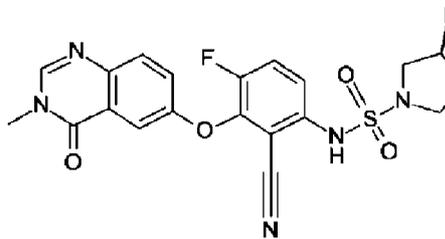
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es el compuesto de fórmula (Ia).



(Ia)

15

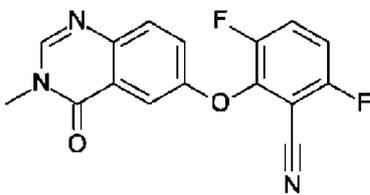
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto es el compuesto de fórmula (Ib).



(Ib)

5. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (B1)

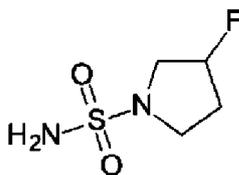
20



(B1)

con un compuesto de fórmula (B2)

25



(B2)

en presencia de una base.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso como sustancia terapéuticamente activa.

5

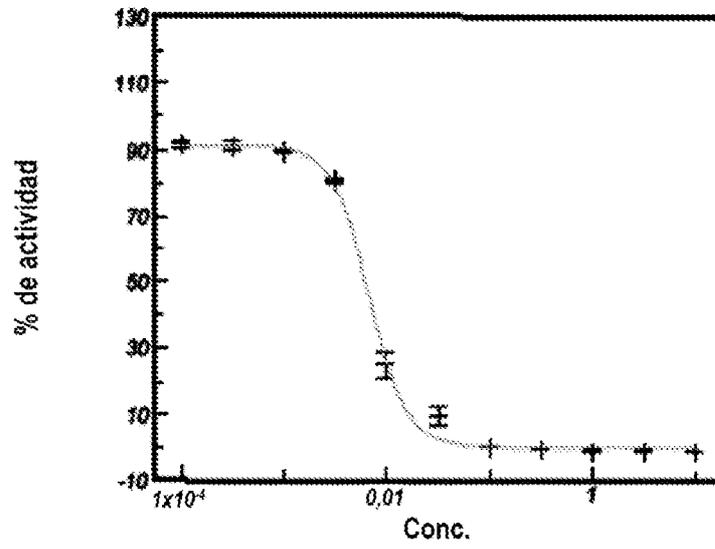
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo terapéuticamente inerte.

10

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en el tratamiento o profilaxis del cáncer.

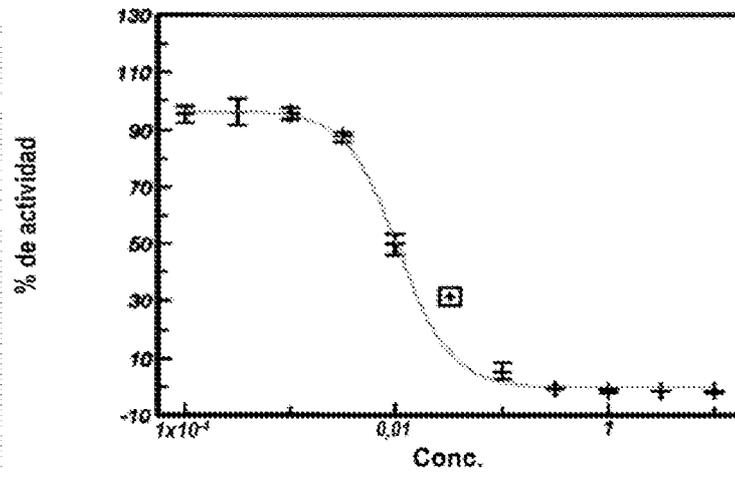
9. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el cáncer es cáncer de tiroides, cáncer colorrectal, cáncer cerebral, melanoma o carcinoma de pulmón no microcítico.

Figura 1



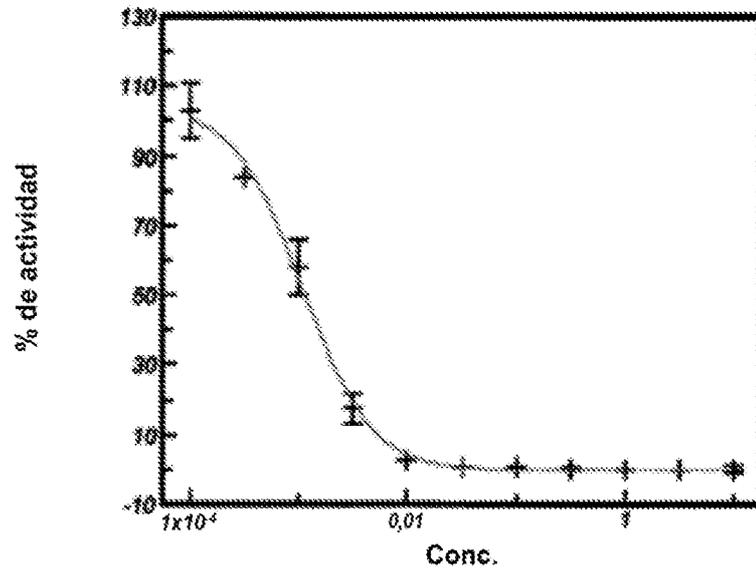
Inhibición de A375 - Ejemplo 1

Figura 2



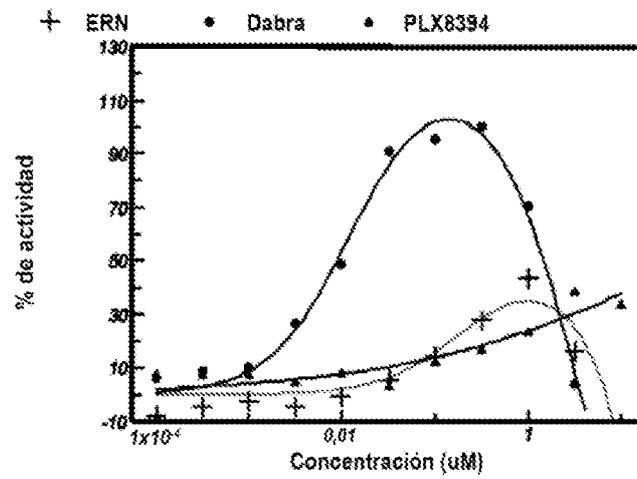
Inhibición de A375 - Ejemplo 2

Figura 3



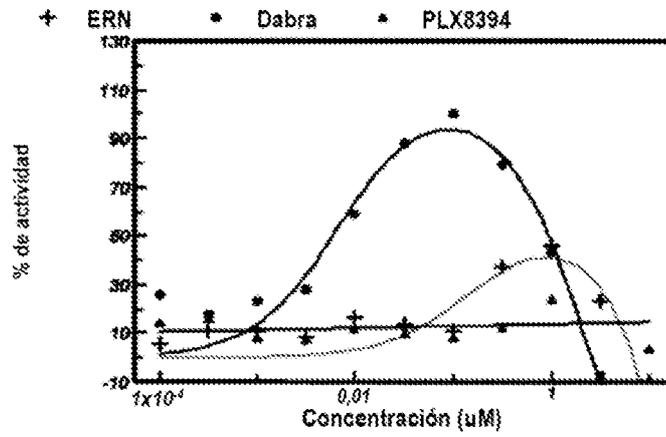
Inhibición de A375 - Ejemplo AR-25

Figura 4



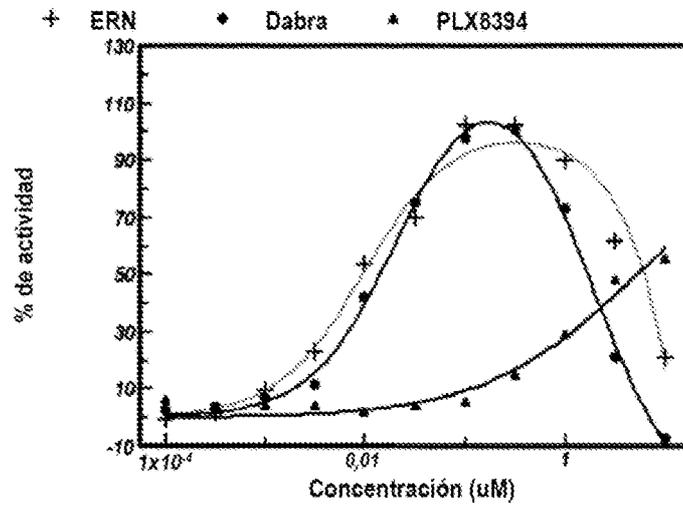
Activación de HCT-116; ejemplo 1 = ERN; la activación máx. del inductor de paradoja dabrafenib se establece en un 100 %; PLX8394 es un control positivo para un rompedor de paradoja

Figura 5



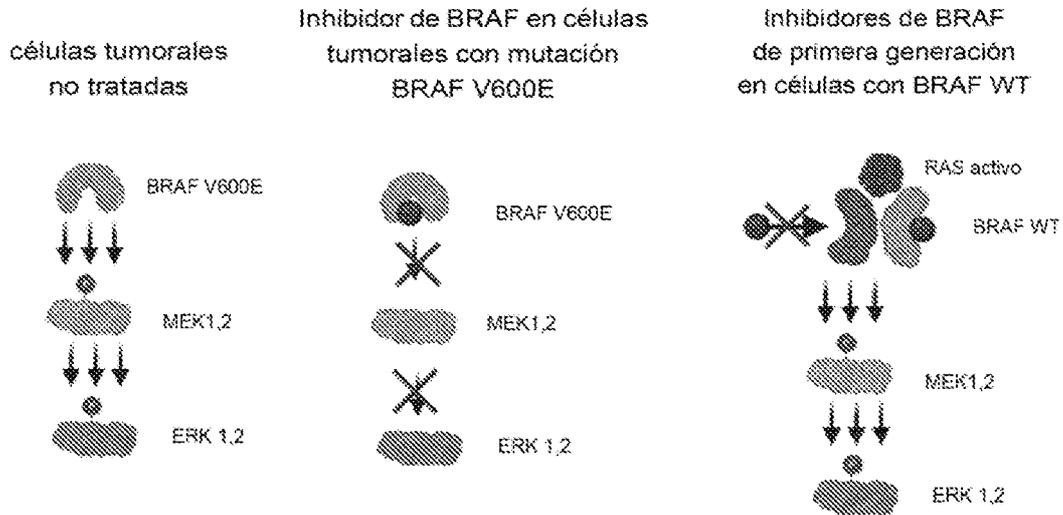
Activación de HCT-116; ejemplo 2 = ERN; la activación máx. del inductor de paradoja dabrafenib se establece en un 100 %; PLX8394 es un control positivo para un rompedor de paradoja

Figura 6



Activación de HCT-116; AR-25 = ERN; la activación máx. del inductor de paradoja dabrafenib se establece en un 100 %; PLX8394 es un control positivo para un rompedor de paradoja

Figura 7



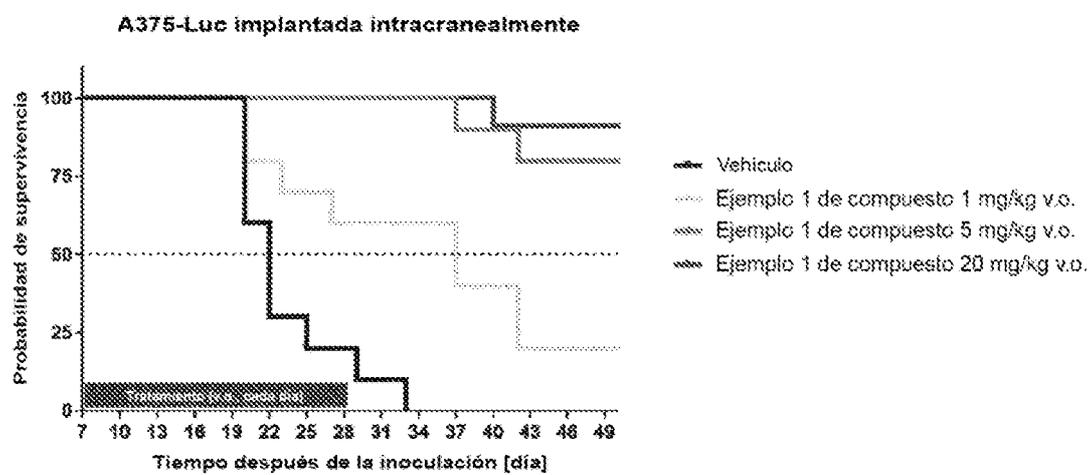
Los inhibidores de BRAF de primera generación inducen la activación paradójica de la vía de señalización de la MAP cinasa en células con BRAF WT

Izquierda: BRAF es parte del primer nodo de la vía de señalización de la MAP cinasa y BRAF mutante es un iniciador oncogénico.

Centro: en los tumores con mutación: BRAF V600E/K, las señales de BRAF como monómero, una condición en la que la proteína se inhibe por inhibidores de BRAF de primera generación.

Derecha: los inhibidores de BRAF de primera generación promueven la homo y/o heterodimerización de BRAF WT. En este contexto, el protómero no ocupado por el inhibidor de BRAF adquiere una conformación desfavorable para la unión del inhibidor. El resultado del tratamiento con un inhibidor de BRAF de primera generación, en este contexto, es paradójicamente una activación de MAPK incrementada y el consecuente crecimiento tumoral en las células con BRAF WT.

Figura 8



El ejemplo 1 de compuesto desencadenó una actividad antitumoral dependiente de la dosis comenzando a partir de 1 mg/kg diario, lo que evidencia una potente eficacia mediada por la permeabilidad cerebral.