

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 936 263**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01)

**C07D 403/12** (2006.01)

**C07D 215/233** (2006.01)

**A61K 31/4709** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2019 PCT/CN2019/080659**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2019 WO19185064**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2019 E 19777026 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2022 EP 3778585**

54 Título: **Compuesto de quinolina o quinazolina y su aplicación**

30 Prioridad:

**30.03.2018 CN 201810277244**

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

**15.03.2023**

73 Titular/es:

**HAIHE BIOPHARMA CO., LTD. (33.3%)  
421 Newton Road, Zhangjiang Hi-Tech Park,  
Pudong New Area  
Shanghai 201203, CN;  
JINAN UNIVERSITY (33.3%) y  
SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA,  
CHINESE ACADEMY OF SCIENCES (33.3%)**

72 Inventor/es:

**DING, KE;  
GENG, MEIYU;  
CHAN, SHINGPAN;  
DING, JIAN;  
TAN, LI;  
AI, JING;  
ZHANG, ZHANG;  
PENG, XIA;  
REN, XIAOMEI;  
JI, YINCHUN;  
TU, ZHENGCHAO;  
DAI, YANG y  
LU, XIAOYUN**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

ES 2 936 263 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

Compuesto de quinolina o quinazolina y su aplicación

## Área técnica

5 La presente divulgación se relaciona con el campo de la tecnología de la medicina química, particularmente con un compuesto de quinoleína o quinazolina y sus aplicaciones.

## Antecedentes

10 AXL es una clase de receptor tirosina quinasa y pertenece a una familia de receptores tirosina quinasa TAM que también incluye otros dos miembros: Mer y Tyro3. El TAM se encontró por primera vez en las células tumorales, cuya sobreexpresión y expresión ectópica están estrechamente relacionadas con la inmunorregulación y la proliferación, el crecimiento y la migración de los tumores. La AXL se aisló de pacientes con leucemia mieloide crónica y pacientes con enfermedad mieloproliferativa crónica en 1988. La AXL se expresa ampliamente en el cerebro, las células inmunitarias, las plaquetas, las células endoteliales, el músculo esquelético, el corazón, el hígado, el riñón y otros tejidos. La proteína quinasa dependiente de la vitamina K Gas6 (específica de la detención del crecimiento 6) es el ligando de AXL más estudiado actualmente, y otros ligandos de la familia TAM son la proteína S, Tubby, Tulp-1 y Galectina-3. La familia TAM tiene una estructura proteica similar, que se compone principalmente de tres partes: un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular. El dominio extracelular comprende dos regiones N-terminales similares a la inmunoglobulina Ig, y dos fragmentos de repetición de fibronectina III (FNIII). El Gas6, tras combinarse con el dominio extracelular de AXL, induce la dimerización de AXL, iniciando la trans-autofosforilación del dominio intracelular, activando así la vía de señalización intracelular y regulando una serie de actividades fisiológicas, como, regular el crecimiento y la proliferación de las células a través de una vía Src/MAPK/ERK, estimular la expresión de proteínas antiapoptóticas a través de una vía PI3K/AKT, regular la migración y la proliferación de las células a través de una vía PI3K/p38/MAPK. Además de la activación dependiente de Gas6, AXL puede activarse de forma independiente del ligando. La AXL participa en la acción de adhesión e inmunorregulación de las células normales. Los estudios han descubierto que la sobreexpresión de AXL existe en una variedad de células tumorales, y la vía de señalización regulada por Gas6/AXL está estrechamente relacionada con la aparición y el desarrollo de varios tumores, como la leucemia mieloide crónica, el cáncer de mama, el cáncer de próstata, el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el cáncer de páncreas, el melanoma, el glioma y el carcinoma de células renales. Se ha confirmado que la inhibición de la expresión de AXL puede reducir la proliferación y el crecimiento de las células de cáncer de páncreas e inhibir la invasión y la migración de las células de cáncer de mama. En el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el silenciamiento del gen AXL puede inhibir el crecimiento del tumor. Al mismo tiempo, la alta expresión de AXL también está relacionada con la recurrencia de un tumor y la tolerancia de otros fármacos anticancerosos, como imatinib (Glivec), erlotinib (Tarceva) y lapatinib (Tyverb). Estas evidencias indican que AXL es una diana eficaz de la terapia dirigida a los tumores.

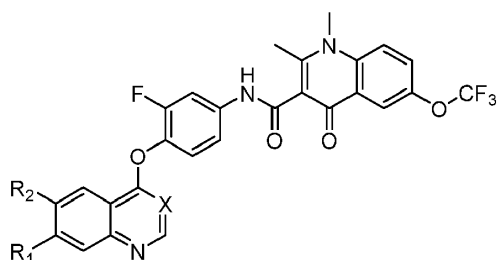
35 Aunque el Bosutinib (SKI606, PF5208763, Bosulif; Pfizer, 2012), el Cabozantinib (XL184, Cometriq; Exelixis, 2012), el Sunitinib (SU11248, Sutent; Pfizer, 2006) y otros fármacos comercializados tienen actividad AXL, son fármacos multiobjetivo sin específicos. BGB324 (R428; Rigel Pharmaceuticals, BergenBio) se conoce actualmente como el inhibidor de molécula pequeña más específico de AXL, que se encuentra en investigación clínica de fase II y que recibió el título de "medicamento huérfano para el tratamiento de la LMA" por parte de la FDA en diciembre de 2014. En la actualidad, no existen en el mercado inhibidores de moléculas pequeñas dirigidos contra las quinasas AXL. Se hace referencia adicional al documento WO 2008/028797.

## Compendio

En base a esto, la presente divulgación proporciona compuestos de quinoleína o quinazolina, que tienen una buena actividad inhibitoria de la quinasa AXL y tiene la ventaja de una buena estabilidad metabólica.

Las soluciones técnicas específicas son las siguientes:

45 Un compuesto de quinoleína o quinazolina que tenga una estructura representada por una fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo:



(I)

donde, X se selecciona de: CH y N;

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, -(CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub> y -O(CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

donde o es un número entero de 2 a 6.

5 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> se seleccionan, cada uno independientemente del grupo que consiste en: -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -(C=O)-NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -COOR<sub>8</sub>, -SOM-NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -CHR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -OR<sub>8</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

10 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan cada uno independientemente entre: hidrógeno, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, o bien, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub>, junto con N conectado a ellos, forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros; donde, el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; donde R<sub>10</sub> es alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>;

o bien, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> forman un cicloalquilo alifático C<sub>5</sub> ~C<sub>18</sub> sustituido o no sustituido que contiene de 1 a 4 heteroátomos.

En algunas de estas realizaciones, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> son cada uno independientemente -O(CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

15 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> se seleccionan, cada uno independientemente del grupo que consiste en: -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, -OR<sub>8</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son cada uno independientemente alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, o, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub>, junto con N conectado a ellos, forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros; donde, el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; donde R<sub>10</sub> es alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>.

20 En algunas de estas realizaciones, R<sub>1</sub> es -O(CH<sub>2</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

o es un número entero de 2 a 4.

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en: -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

25 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son cada uno independientemente alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>, o, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub>, junto con N conectado a ellos, forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 6 miembros; en el que, el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 6 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; en el que R<sub>10</sub> es alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>.

30 En algunas de estas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona de un grupo que consiste en: metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-metoxietoxilo, 3-metoxipropoxilo, 3-morfolinopropoxilo, 2-(pirrolidin-1-il) etoxilo, 3-(pirrolidin-1-il) propoxilo, (piperidin-1-il) etoxilo, (piperidin-1-il) propoxilo, 4-metoxibutoxilo, 2-morfolinoetoxilo, (4-metilpiperazin-1-il) propoxilo, dimetilaminoetoxilo e isopentiloxilo.

En algunas de estas realizaciones, R<sub>2</sub> es -O(CH<sub>2</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

o es un número entero de 2 a 4.

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en: -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

o bien, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub>, junto con N conectado a ellos, forman un grupo heterocíclico saturado de 5 a 6 miembros.

35 En algunas de estas realizaciones, R<sub>2</sub> se selecciona de un grupo que consiste en: metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-metoxietoxilo, 3-metoxipropoxilo, 2-morfolinoetoxilo y 3-morfolinopropoxilo.

En algunas de estas realizaciones, X es N.

En algunas de estas realizaciones, el compuesto de quinoleína o quinazolina se selecciona de un grupo que consiste en:

40 N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,

N-(4-((6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,

45 N-(4-((6,7-dimetoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,

- N*-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(4-metoxibutoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 5 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-morfolinoetoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(pirrolidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 10 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(piperidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(4-metilpiperazin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(pirrolidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 15 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(piperidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 20 *N*-(4-((7-(2-(dimetilamino)etoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((7-(isopentiloxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-propoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 25 *N*-(4-((7-etoxi-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida, y
- 30 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida.

La presente divulgación también proporciona usos de los compuestos de quinoleína o quinazolina mencionados anteriormente.

Las soluciones técnicas específicas son las siguientes:

- 35 Los mencionados compuestos de quinoleína o quinazolina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, estereoisómeros de los mismos o análogos deuterados de los mismos para su uso en la inhibición de la acción de la quinasa AXL y/o la quinasa Flt3.

Los compuestos de quinoleína o quinazolina mencionados anteriormente o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, los estereoisómeros de los mismos o los análogos deuterados de los mismos para su uso en la prevención o el tratamiento de tumores.

- 40 En algunas realizaciones, el tumor es un tumor hematológico, un tumor del estroma gastrointestinal, un linfoma histiocítico, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer de pulmón de células pequeñas, un adenocarcinoma de pulmón, un carcinoma de células escamosas de pulmón, un cáncer de páncreas, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer de hígado, un cáncer de piel, un carcinoma de células epiteliales o un carcinoma nasofaríngeo. El tumor hematológico es preferentemente una leucemia.

- 45 La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de un tumor.

Las soluciones técnicas específicas son las siguientes:

Una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de un tumor, que comprende un ingrediente activo y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que el ingrediente activo comprende el mencionado compuesto de quinolina o quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo.

5 Los compuestos de quinolina o quinazolina o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, los estereoisómeros de los mismos o las composiciones farmacéuticas de los mismos de la presente divulgación pueden ser eficaces para inhibir la acción de la proteína quinasa AXL y pueden inhibir la proliferación, la migración y la invasión de diversas células tumorales. Y basándose en un gran número de estudios experimentales creativos, los inventores han encontrado inesperadamente que la introducción del trifluorometoxi en la posición 6 de la 1,4-dihidroquinolina de los compuestos de quinoleína o quinazolina de la presente divulgación puede mejorar en gran medida las estabilidades metabólicas in vivo de dichos compuestos, permitiendo así que los compuestos tengan mayores actividades antitumorales in vivo, a la vez que tienen las ventajas de ser menos tóxicos y de tener menos efectos secundarios, pudiendo utilizarse para preparar fármacos para prevenir o tratar enfermedades hiperproliferativas como los tumores en humanos y otros mamíferos.

### 15 Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra los espectros de los resultados de la detección de los metabolitos relacionados con el compuesto TL134 en los hepatocitos mediante el procedimiento UPLC/Q-TOF MS; donde A es un hepatocito inactivado, B es un hepatocito humano y C es un hepatocito de mono.

20 La Figura 2 muestra los espectros de los resultados de la detección de los metabolitos relacionados con el compuesto TL134 en los hepatocitos mediante el procedimiento UPLC/Q-TOF MS; donde D es un hepatocito canino, E es un hepatocito de rata y F es un hepatocito de ratón.

La figura 3 muestra los espectros de los resultados de la detección de los metabolitos relacionados con el TL134 en los hepatocitos mediante el procedimiento UPLC-UV (254 nm); donde A es un hepatocito inactivado, B es un hepatocito humano y C es un hepatocito de mono.

25 La figura 4 muestra los espectros de los resultados de la detección de los metabolitos relacionados con el TL134 en los hepatocitos mediante el procedimiento UPLC-UV (254 nm); donde D es un hepatocito canino, E es un hepatocito de rata y F es un hepatocito de ratón.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

30 La presente divulgación se describirá con más detalle a continuación con referencia a los ejemplos y dibujos, pero la realización de la presente divulgación no se limita a ello.

En los compuestos mencionados en la presente divulgación, cuando cualquier variable (por ejemplo, R<sub>1</sub>, R, etc.) aparece más de una vez en cualquier componente, la definición de cada ocurrencia es independiente de la definición de cada otra ocurrencia. También se permiten combinaciones de sustituyentes y variables siempre que dichas combinaciones establezcan el compuesto. La línea dibujada entrando en el sistema de anillos desde un sustituyente representa que el enlace indicado puede estar conectado a cualquier átomo del anillo que pueda ser sustituido. Si el sistema de anillos es policíclico, significa que dicho enlace sólo está conectado a cualquier átomo de carbono apropiado de los anillos adyacentes. Debe entenderse que aquellos con conocimientos ordinarios en la materia pueden seleccionar sustituyentes y formas sustituidas de los compuestos de la presente divulgación para proporcionar compuestos químicamente estables que puedan ser fácilmente sintetizados a partir de materias primas fácilmente disponibles mediante técnicas en la materia y los procedimientos expuestos a continuación. Si el sustituyente mismo está sustituido con más de un grupo, debe entenderse que estos grupos pueden estar en el mismo átomo de carbono o en diferentes átomos de carbono siempre que la estructura sea estable.

45 El término "alquilo", tal y como se utiliza en el presente documento, incluye grupos de hidrocarburos alifáticos saturados de cadena ramificada y recta que tienen un número determinado de átomos de carbono. Por ejemplo, la definición de "C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>" en "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>" incluye grupos que tienen 1, 2, 3, 4 o 5 átomos de carbono dispuestos en una cadena recta o ramificada. Por ejemplo, "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>" incluye específicamente el metilo, el etilo, el n-propilo, el isopropilo, el n-butilo, el terc-butilo, el isobutilo y el pentilo. El término "cicloalquilo" se refiere a un grupo de hidrocarburos alifáticos saturados monocíclicos con un número determinado de átomos de carbono. Por ejemplo, el "cicloalquilo" incluye el ciclopropilo, el metil-ciclopropilo, el ciclobutilo, el ciclopentilo, el ciclohexilo y similares.

50 El término "heterociclo" o "grupo heterociclilo/heterocíclico", tal como se utiliza aquí, se refiere a un anillo heterocíclico aromático o no aromático de 5 a 6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre O, N y S, y puede incluir grupos bicíclicos. El término "heterociclilo" incluye, por tanto, los grupos heteroarilo mencionados anteriormente, así como los análogos dihidrogenados y tetrahidrogenados de los mismos. Otros ejemplos de "heterociclilo" incluyen, pero no se limitan a: imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, oxetanilo, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolilo, quinoxalinilo, tetrazolilo, tiazolilo, tienilo y azolilo. La conexión de los sustituyentes heterocíclicos puede realizarse a través de átomos de carbono o de heteroátomos.

Tal y como lo entienden los expertos en la materia, el "halo" o "halógeno", tal y como se utiliza aquí, incluye el cloro, el flúor, el bromo y el yodo.

Los sustituyentes alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar sin sustituir o sustituidos, a menos que se defina lo contrario. Por ejemplo, el alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) puede estar sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, halógeno, nitrilo, grupo ciano, alcoxilo, grupo dialquilamino y grupo heterocíclico, como morfolinilo, piperidinilo y similares.

La presente divulgación incluye la forma libre del compuesto de fórmula I, así como las sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo. Algunos compuestos ejemplares específicos de este documento son sales protonadas de compuestos de amina. El término "forma libre" se refiere a los compuestos de amina en forma no salina. Las sales farmacéuticamente aceptables incluidas incluyen no sólo las sales ejemplares de los compuestos específicos descritos en el presente documento, sino también las sales farmacéuticamente aceptables típicas de todos los compuestos de fórmula I en forma libre. La forma libre de la sal específica del compuesto puede separarse mediante técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, la forma libre puede regenerarse tratando la sal con una solución acuosa diluida básica apropiada, como la solución acuosa diluida de NaOH, la solución acuosa diluida de carbonato de potasio, el licor de amoníaco diluido y la solución acuosa diluida de bicarbonato de sodio. La forma libre es algo diferente de su respectiva forma de sal en ciertas propiedades físicas, como la solubilidad en disolventes polares, pero para los fines de la invención, dichas sales de ácido y sales de base son comparables a sus respectivas formas libres en otros aspectos farmacéuticos.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente divulgación se pueden sintetizar a partir de los compuestos de la presente divulgación que contiene una fracción básica o ácida mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, las sales de compuestos alcalinos se preparan por cromatografía de intercambio iónico o por la reacción de una base libre y una cantidad estequiométrica o un exceso de ácidos inorgánicos u orgánicos de una forma de sal deseada en un disolvente apropiado o una combinación de múltiples disolventes. Del mismo modo, las sales de los compuestos ácidos se forman mediante la reacción con bases inorgánicas u orgánicas adecuadas.

Por lo tanto, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente divulgación incluyen las sales convencionales no tóxicas de los compuestos de la presente divulgación formadas por la reacción de los compuestos alcalinos de la presente divulgación con ácidos inorgánicos u orgánicos. Por ejemplo, las sales no tóxicas convencionales incluyen sales derivadas de ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido sulfámico, el ácido fosfórico, el ácido nítrico, etc, así como sales preparadas a partir de ácidos orgánicos como el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido succínico, el ácido glicólico, el ácido esteárico, el ácido láctico, el ácido málico, el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido ascórbico, el ácido pamóico, el ácido maleico, el ácido hidroximaleico, el ácido fenilacético, ácido glutámico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido p-aminobenzenosulfónico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido fumárico, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanedisulfónico, ácido oxálico, ácido isetiónico, ácido trifluoroacético y similares.

Si el compuesto de la presente divulgación es ácido, una "sal farmacéuticamente aceptable" apropiada se refiere a una sal preparada por bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, sales de amonio, sales de calcio, sales de cobre, sales de hierro, sales ferrosas, sales de litio, sales de magnesio, sales de manganeso, sales manganosas, sales de potasio, sales de sodio, sales de zinc y similares. Se prefieren especialmente las sales de amonio, de calcio, de magnesio, de potasio y de sodio. En cuanto a las sales derivadas de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables, dichas bases incluyen sales de aminas primarias, aminas secundarias y aminas terciarias, las aminas sustituidas incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, como arginina, glicina betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, aminoetanol, etanolamina, etanodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucosamina, aminoglucosa, histidina, hidroxibalamina, isopropilamina, lisina, metilglucosamina, morfolina, piperazina, piperidina, resina de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina, etc.

Las preparaciones de las sales farmacéuticamente aceptables mencionadas anteriormente y otras sales farmacéuticamente aceptables típicas se describen con más detalle en "Berg et al., Pharmaceutical Salts, J. Pharm. Sci. 1977: 66: 1-19".

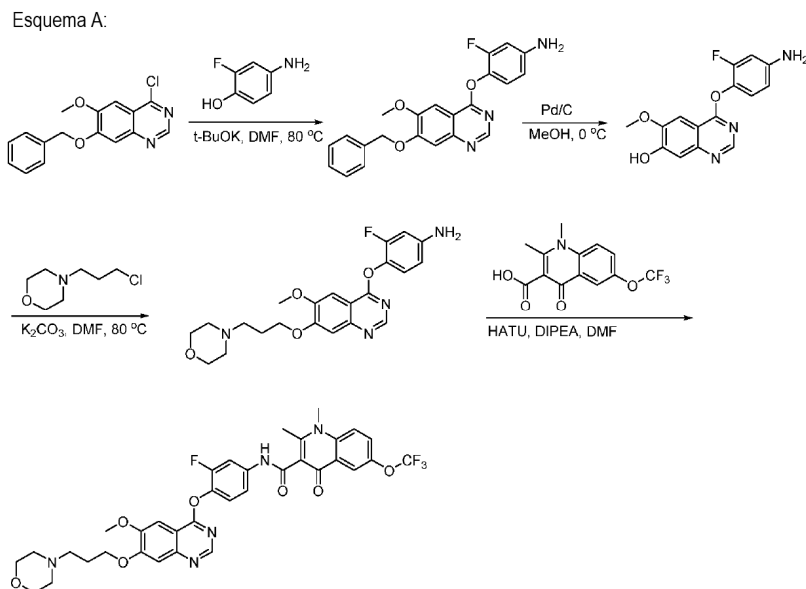
Dado que la fracción ácida desprotonada del compuesto, como por ejemplo el grupo carboxilo, puede ser aniónica en condiciones fisiológicas, y esta carga puede ser contrarrestada por una fracción básica protonada o alquilada con un catión en su interior, como por ejemplo un átomo de nitrógeno tetravalente, cabe señalar que los compuestos de la presente divulgación son potenciales sales internas o zwitteriones.

Además de los procedimientos estándar conocidos en las literaturas o ejemplificados en los procedimientos experimentales, los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse utilizando las reacciones mostradas en los siguientes esquemas. Por lo tanto, los siguientes esquemas ilustrativos son para el propósito de la ilustración y no se limitan a los compuestos enumerados o cualquier sustituyentes específicos. El número de sustituyentes mostrado

en los esquemas no coincide necesariamente con el número utilizado en las reivindicaciones, y se muestra que un monosustituyente está unido a un compuesto que permite múltiples sustituyentes según la definición de la fórmula (I) anterior para mayor claridad.

### Esquemas de síntesis

- 5 Como se muestra en el Esquema A, se puede sintetizar un compuesto de la fórmula (I) a partir de 7-benciloxi-4-cloro-6-metoxiquinazolina como material de partida mediante una reacción de 4 pasos



10 Los compuestos de la fórmula (I) proporcionados por la presente divulgación o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o los estereoisómeros de los mismos pueden utilizarse para tratar enfermedades o síntomas hiperproliferativos en seres humanos u otros mamíferos, como los tumores. Se utiliza especialmente en la preparación de fármacos para el tratamiento o el control de enfermedades hiperproliferativas, como el tumor del estroma gastrointestinal, el linfoma histiocítico, el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el cáncer de pulmón de células pequeñas, el adenocarcinoma de pulmón, el carcinoma de células escamosas de pulmón, el cáncer de páncreas, el cáncer de mama, el cáncer de próstata, el cáncer de hígado, el cáncer de piel, el carcinoma de células epiteliales, el  
15 cáncer de próstata, el carcinoma nasofaríngeo, la leucemia y similares.

20 Los compuestos diseñados por la presente divulgación o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o los estereoisómeros de los mismos pueden utilizarse en combinación con medicamentos actualmente en uso o en fase de desarrollo para aumentar sus efectos clínicos, tales medicamentos como moduladores del receptor de estrógeno moduladores de los receptores de andrógenos, moduladores de los receptores similares a los de la retina, citotóxicos/citostáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína transferasa, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la proteína quinasa del VIH, inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores de la angiogénesis, inhibidores de la proliferación celular y de la señal de supervivencia, fármacos que interfieren en los puntos de control del ciclo celular e inductores de la apoptosis, fármacos citotóxicos, inhibidores de la proteína tirosina, inhibidores del EGFR, inhibidores del VEGFR, inhibidores de la proteína serina/treonina, inhibidores del Bcr-Abl, inhibidores del c-Kit, inhibidores del Met, inhibidores del Raf, inhibidores del MEK, inhibidores del MMP, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de la histidina desacetilasa, inhibidores del proteasoma, inhibidores de la CDK, inhibidores de la proteína de la familia Bcl-2, inhibidores de la proteína de la familia MDM2, inhibidores de la proteína de la familia IAP, inhibidores de la proteína de la familia STAT, inhibidores de la PI3K, inhibidores de la AKT, bloqueadores de la integrina, interferón- $\alpha$ , interleucina-12, inhibidores de la COX-2, activadores de la p53, anticuerpos del VEGF, anticuerpos del EGF, etc.  
30

Los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o los estereoisómeros de los mismos o las composiciones farmacéuticas de los mismos según la presente divulgación pueden ser para su uso en la prevención o el tratamiento de las siguientes enfermedades y otras enfermedades no enumeradas a continuación:

- 35 (1) Cánceres de mama en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitado a carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal in situ y carcinoma lobular in situ.

- (2) Cánceres del tracto respiratorio en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitado a cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas y adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.
- 5 (3) Cánceres cerebrales en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitándose a gliomas del tronco cerebral y suboculares, astrocitomas cerebelosos y cerebrales, ependimomas y tumores neuroectodérmicos y pineales.
- (4) Tumores en los órganos reproductores masculinos y femeninos de los seres humanos u otros mamíferos, tumores de los órganos reproductores masculinos, incluidos, pero no limitados, a los cánceres de próstata y de testículos; tumores de los órganos reproductores femeninos, incluidos, pero no limitados, a los cánceres de endometrio, de cuello de útero, de ovarios, de vagina y de vulva, y a los tumores intrauterinos.
- 10 (5) Tumores en el tracto digestivo de los seres humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitado a cáncer anal, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer rectal, cáncer de intestino delgado o cáncer de glándulas salivales.
- (6) Tumores en las uretras de los seres humanos o de otros mamíferos, incluidos, entre otros, el cáncer de vejiga, el cáncer de pene, el cáncer de riñón, el cáncer de pelvis renal, el cáncer ureteral o el cáncer de uretra.
- 15 (7) Cánceres oculares en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitándose al melanoma intraocular y al retinocitoma.
- (8) Cánceres de hígado en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero sin limitarse al carcinoma hepatocelular (carcinoma de células madre con o sin cambios de fibra), colangiocarcinoma (colangiocarcinoma intrahepático) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.
- 20 (9) Cánceres de piel en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitándose al carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de piel de células de Merck y carcinoma de células no melanoma.
- (10) Cánceres de cabeza y cuello en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitándose a los cánceres de laringe, hipofaringe, nasofaringe, orofaringe y cánceres de labio y boca.
- 25 (11) Linfomas en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero sin limitarse al linfoma relacionado con el SIDA, el linfoma no Hodgkin, el linfoma cutáneo de células T, la enfermedad de Hodgkin y el linfoma del sistema nervioso central.
- (12) Sarcomas en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitado a sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, sarcoma linfático y rhabdomyosarcoma.
- 30 (13) Leucemias en humanos u otros mamíferos, incluyendo pero no limitándose a la leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y leucemia de células pilosas.

#### Modo de administración e intervalo de dosis

35 Según las técnicas farmacéuticas estándar, los compuestos de la presente divulgación pueden administrarse solos o en combinación con receptores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables en composiciones farmacéuticas, a un mamífero, preferentemente un humano. Los compuestos pueden administrarse por vía oral o subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, rectal y tópica, ocular, pulmonar, nasal y parenteral.

40 En una realización, el intervalo de dosificación es de 0,1 a 500 mg/día/kg de peso corporal por vía oral cuando los compuestos de la fórmula (I) se utilizan para preparar medicamentos para el tratamiento o control de los pacientes con cáncer y similares. El modo de administración apropiado es la administración de una dosis diaria, o la administración de dos, tres o cuatro veces al día, o la administración mediante técnicas de liberación sostenida. Para una variedad de grandes mamíferos, el intervalo de dosificación preferido es de 0,1 a 1500 mg/día/kg de peso corporal, preferentemente de 0,5 a 100 mg/día/kg de peso corporal. Para los pacientes con un peso medio de 70 kg, la dosis diaria del mismo es de 1 a 500 mg. Para algunos compuestos especialmente activos, la dosis diaria para pacientes adultos puede ser tan baja como 0,1 mg/día.

45

#### Administración combinada

50 Los compuestos de la fórmula (I) pueden utilizarse en combinación con fármacos conocidos para tratar o mejorar síntomas similares. En la administración combinada, el procedimiento de administración y la dosis de los fármacos conocidos se han mantenido igual, mientras que un compuesto de la fórmula (I) se toma de forma contemporánea o secuencial. Cuando un compuesto de la fórmula (I) se utiliza simultáneamente con uno o más fármacos, es preferible utilizar una composición farmacéutica que contenga uno o más fármacos conocidos y el compuesto de la fórmula (I). La terapia farmacológica combinada también comprende la toma del compuesto de la fórmula (I) con uno o más fármacos conocidos en períodos de tiempo superpuestos. Cuando el compuesto de la fórmula (I) se utiliza en

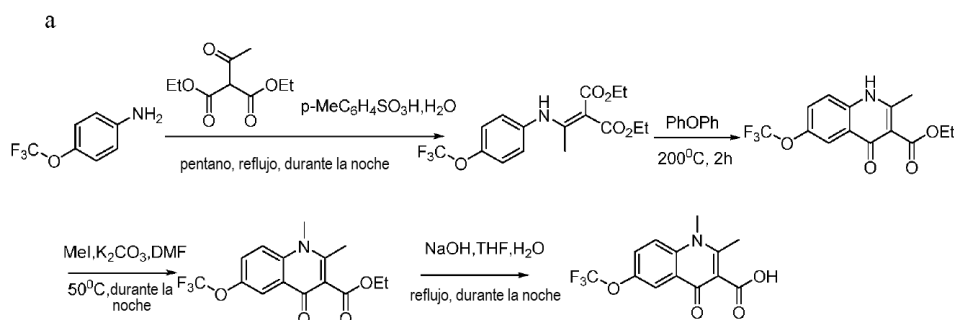
combinación con uno o más fármacos, el compuesto de la fórmula (I) y los otros fármacos conocidos pueden utilizarse en dosis más bajas que cuando se utilizan solos.

Los fármacos o ingredientes activos que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la fórmula (I) incluyen, entre otros moduladores de los receptores de estrógenos, moduladores de los receptores de andrógenos, moduladores de los receptores de tipo retina, citotóxicos/citostáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína transferasa, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la proteína quinasa del VIH inhibidores de la transcriptasa inversa, inhibidores de la angiogénesis, inhibidores de la señal de proliferación y supervivencia celular, fármacos que interfieren en los puntos de control del ciclo celular e inductores de la apoptosis, fármacos citotóxicos, inhibidores de la proteína tirosina, inhibidores del EGFR, inhibidores del VEGFR, inhibidores de proteínas de serina/treonina, inhibidores de Bcr-Abl, inhibidores de c-Kit, inhibidores de Met, inhibidores de Raf, inhibidores de MEK, inhibidores de MMP, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de histidina desacetilasa, inhibidores de proteasoma, inhibidores de CDK, inhibidores de proteínas de la familia Bcl-2, Inhibidores de la proteína de la familia MDM2, inhibidores de la proteína de la familia IAP, inhibidores de la proteína de la familia STAT, inhibidores de la PI3K, inhibidores de la AKT, bloqueadores de la integrina, interferón- $\alpha$ , interleucina-12, inhibidores de la COX-2, p53, activadores de la p53, anticuerpos del VEGF, anticuerpos del EGF, y similares.

En una realización, los fármacos o ingredientes activos que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a: aldesleukina, ácido alendrónico, interferón, alitretinoína, alopurinol, alopurinol sódico, clorhidrato de palonosetrón, altretamina, aminoglutetimida, amifostina, amrubicina, amsacrina, anastrozol, dolasetrón, aranesp, arglabin, trióxido de arsénico, aromasina, 5-azacitidina, azatioprina, bacilo calmette-guerina (BCG) o tice BCG, bestatina, acetato de betametasona, preparado de fosfato sódico de betametasona, bexaroteno, sulfato de bleomicina, bromouridina, bortezomib, busulfán, calcitonina, alemtuzumab inyectable, capecitabina, carboplatino, casodex, cefesona, celmoleucina, daunorubicina, clorambucil, cis-platino, cladribina, ácido clodrónico, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, actinomicina D, liposomas de daunorubicina, dexametasona, fosfato de dexametasona, valerato de estradiol, denileukina difitox 2, depo-medrol, deslorelina, dextrazoxano, estilbestrol, diflucan, docetaxel, doxifluridina, adriamicina, dronabinol, Complejo Ho-166-quitosano, eligard, rasburicase, clorhidrato de epirubicina, aprepitant, epirubicina, epoetina alfa, eritropoyetina, eptaplatina, comprimidos de levamisol, preparados de estradiol, 17- $\beta$ -estradiol, fosfato sódico de estramustina, etinilestradiol, amifostina, ácido hidroxifosfórico, etopophos, etopósido, fadrozol, preparados de tamoxifeno, filgrastim, finasterida, filgrastim, floxuridina, fluconazol, fludarabina, monofosfato de 5-fluoro-2-deoxiuridina, 5-fluorouracilo, fluoximesterona, flutamida, formestán, fosfato de 1- $\beta$ -D-arabinofuranosilcitosina-5'-estearoil, fotemustina, fulvestrant, gammaglobulina, gemcitabina, gemituzumab, mesilato de imatinib, cápsulas de papel de arroz glutinoso de carmustina, goserelina, clorhidrato de granitelón, hialina, hcamtina, hidrocortisona, eritro-hidroxiiladenina, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, interferón  $\alpha$ , interferón- $\alpha$ 2, interferón  $\alpha$ -2A, interferón  $\alpha$ -2B, interferón  $\alpha$ -n1, interferón  $\alpha$ -n3, interferón $\beta$ , interferón  $\gamma$ -1a, interleucina-2, intrón A, iressa, irinotecán, kytril, sulfato de lentinan, letrozol, formiltetrahidrofolato, leuprorelina, acetato de leuprorelina, levamisol, levofolinato de calcio, preparados de levotiroxina sódica lomustina, lonidamina, dronabinol, mostaza nitrogenada, metilcobalamina, acetato de medroprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, estrógeno esterificado, 6-mercaptapurina, mesna, ametopterina, aminolevulinato de metilo, miltefosina, minociclina, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, trilostano, liposomas de citrato de adriamicina, nedaplatina, filgrastim pegilado, oprelvekin, neupogen, nilutamida, tamoxifeno, NSC-631570, interleucina 1- $\beta$  humana recombinante, octreotida, clorhidrato de ondansetrón, soluciones orales de deshidrocortisona, oxaliplatino, paclitaxel, preparados de fosfato sódico de prednisona, pegaspargasa, pegasys, pentostatina, picibanil, clorhidrato de pilocarpina, pirarubicina, plicamicina, porfimer sódico, prednimustina, esteagato de prednisolona, prednisona, premarina, procarbazona, eritropoyetina humana recombinante, raltitrexed, rebif, etidronato-renio-186, mabthera, redoxon-A, romurtide, comprimidos de clorhidrato de pilocarpina, octreotida, sargramostim, semustina, sizofiran, sobuzoxano, metilprednisolona sódica, ácido pápico, terapia con células madre, estreptozocina, cloruro de estroncio-89, levotiroxina sódica, tamoxifeno, tamsulosina, tasunaming, tastolactona, taxotere, teceleukina, temozolomida, teniposida, propionato de testosterona, metiltestosterona, tioguanina, tiotepa, hormona estimulante del tiroides, ácido tiludrónico, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, comprimidos de metotrexato, trimetilmelamina, trimetrexato, acetato de triptorelina, triptorelinpamoato, UFT, uridina, valrubicina, vesnarinona, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, virulizina, dextrazoxano, zinostatina stimalamer, zofran, estabilizador de proteínas de paclitaxel, acolbifeno, interferón r-lb, affinitak, aminopterina, arzoxifeno, asoprisnil, atamestano, atrasentan, BAY 43-9006, avastin, CCI-779, CDC-501, celebrex, cetuximab, crisnatol, acetato de ciproterona, decitabina, DN-101, adriamicina-MTC, dSLIM, dutasterida, edotecarina, eflunitina, exatecan, fenretinida, dihidrocloruro de histamina, implante de hidrogel de histrelina, holmium-166 DOTMP, ácido ibandrónico, interferón  $\gamma$ , intron-PEG, ixabepilona, hemocianina de lapa, L-651582, lanreotida, lasofoxifeno, libra, lonafamib, miproxifeno, minocolate, MS-209, lipidosoma MTP-PE, MX-6, nafarelina, nemorubicina, neovastat, nolatrexed, oblimersen, onco-TCS, osidem, poliglutamato de paclitaxel, pamidronato sódico, PN-401, QS-21, quazepam, R-1549, raloxifeno, onconasa, ácido 13-cis-retinoico, satraplatino, seocalcitol, T-138067, tarceva, paclitaxel de ácido docosahexaenoico, timosina  $\alpha$ 1, galazolina, tipifarnib, tirapazamina, TLK-286, toremifeno, trans-MID-lo7R, valsopodar, vapreotida, vatalanib, verteporfín, vinflunina, Z-100 y ácido zoledrónico o una combinación de ellos.

Los siguientes son ejemplos específicos, y los reactivos de materia prima utilizados en los siguientes ejemplos están todos disponibles comercialmente.

**Ejemplo 1: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL134)**



**Paso a1: Preparación del 2-(1-((trifluorometoxi)fenil)amino)etiliden)malonato de dietilo**

- 5 La P-trifluorometoxianilina (2,42 g, 20 mmol) y el acetilmalonato de dietilo (2,02 g, 10 mmol) se disolvieron en 50 ml de n-pentano, después se añadió una cantidad catalítica de ácido p-toluenosulfónico (20 mg), y la reacción se sometió a reflujo durante la noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió una pequeña cantidad de NaHCO<sub>3</sub> saturado, después se extrajo la mezcla dos veces con EA. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron una vez con salmuera saturada y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se secaron por evaporación rotatoria, y se sometieron a cromatografía en columna para dar 2,68 g (87,8 %) de un sólido.
- 10

**Paso a2: Preparación de 2-metil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo**

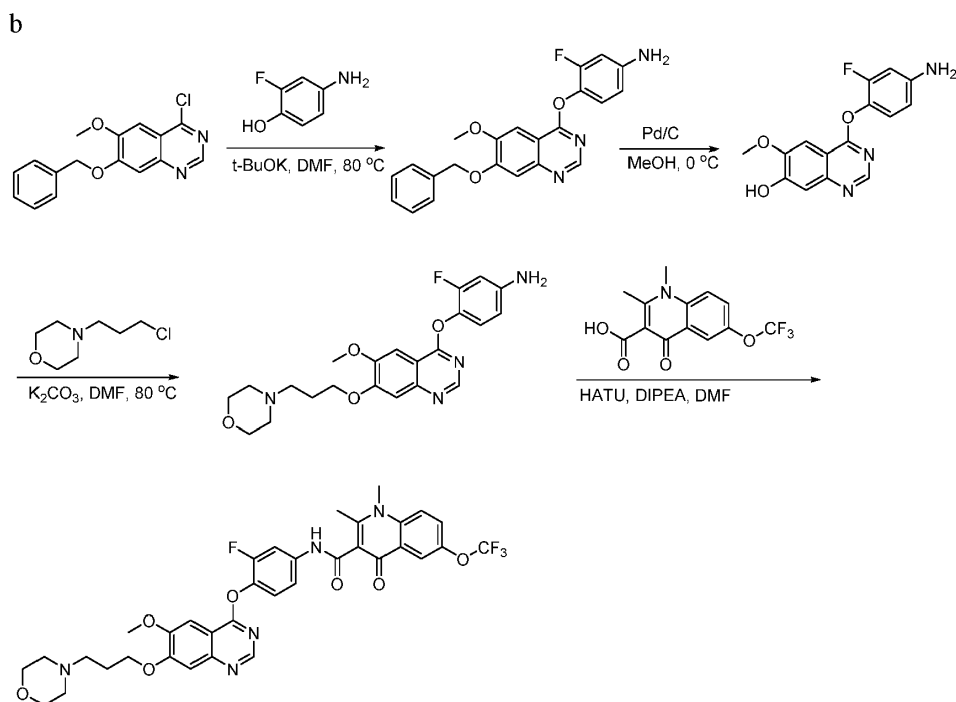
- Se disolvió 2-(1-((trifluorometoxi)fenil)amino)etiliden)malonato de dietilo (2,5 g, 8,2 mmol) en 25 ml de éter de difenilo, se calentó a 200 °C y se hizo reaccionar con agitación durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se precipitó un sólido, después se filtró la mezcla, se lavó con PE y se secó por succión para dar 2 g (94,3 %) de un sólido blanco.
- 15

**Paso a3: Preparación de 1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo**

- El 2-metil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo (2 g, 7,7 mmol) y el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,18 g, 23,1 mmol) se disolvieron en 50 ml de DMF, luego se añadió MeI (0,72 ml, 11,55 mmol) con agitación, y la mezcla se hizo reaccionar a 50 °C durante la noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se apagó con agua y se precipitó un sólido. La mezcla se lavó con agua varias veces y el sólido se extrajo con DCM varias veces. Las fases orgánicas se combinaron y se secaron por evaporación rotatoria, y luego se sometieron a cromatografía en columna para dar 1,52 g (72,4 %) de un sólido blanco.
- 20

**Paso a4: Preparación del ácido 1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico**

- El 1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo (1,5 g, 5,5 mmol) y el NaOH (880 mg, 22 mmol) se disolvieron en un disolvente mixto de 30 ml de etanol y 15 ml de agua, y la mezcla se hizo reaccionar durante la noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, luego se secó la mayor parte del disolvente orgánico por evaporación rotatoria, se añadió agua, se ajustó el pH a 7-8 mediante HCl diluido en un baño de hielo, luego se precipitó un sólido, se filtró la mezcla y se secó por succión para dar 1,25 g (93,3 %) de un sólido blanco
- 25



#### Paso b1: Preparación de 4-((7-(benzoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluoroanilina

A un matraz de reacción se añadieron 7-benciloxi-4-cloro-6-metoxiquinazolina (4,5 g, 15 mmol), 4-amino-2-fluorofenol (2,3 g, 18 mmol), terc-butóxido de potasio (2,4 g, 21 mmol) y DMF (250 ml), y la mezcla se calentó a 80 °C para reaccionar durante 2 horas. Tras detener la reacción y eliminar el disolvente a presión reducida, la mezcla se sometió a cromatografía en columna seca para dar 3,6 g (62 %) de 4-((7-(benzoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluoroanilina. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 8,53 (d, J=5,95 Hz, 6 H), 1 (t, J=7,10 Hz, 3 H), 7,49 (s, 3 H), 7,44 - 4,47 (m, 2 H), 7,37 (dt, J=12,02, 7,2 Hz, 1 H), 7,04 - 6,86 (m, 1 H), 6,50 (dd, J=2,4, 13,2 Hz, 1 H), 6,42 (dd, J=2,4, 8,8 Hz, 1 H), 5,39 (s, 1 H), 5,35 (s, 1 H) (M+H)<sup>+</sup> m/z 391 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Paso b2: Preparación de 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoxiquinazolin-7-ol

4-((7-(benzoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluoroanilina (5,2 g, 13,3 mmol), Pd/C (0,4 g) y metanol (250 ml) se hicieron reaccionar a 0 °C bajo una atmósfera de hidrógeno durante la noche, después se eliminó el Pd/C por filtración, y el filtrado se concentró y se sometió a una columna para dar 2,4 g (60 %) de 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoxiquinazolin-7-ol. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, *d*<sub>6</sub>-DMSO) δ 10,72 (s, 1 H), 8,45 (s, 1 H), 7,52 (s, 1 H), 7,22 (d, J = 3,2 Hz, 1 H), 7,02 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,49 (dd, J = 2,4, 12,8 Hz, 1 H), 6,41 (dd, J = 2,0, 8,8 Hz, 1 H), 5,37 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 301 [M+H]<sup>+</sup>.

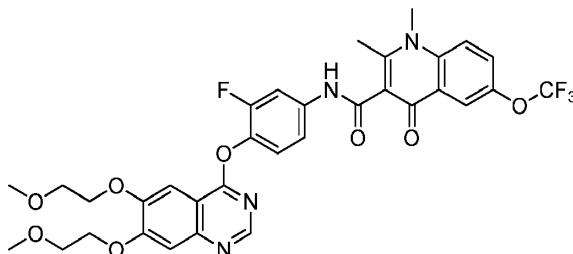
#### Paso b3: Preparación de 3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)anilina

Se añadieron 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoxiquinazolin-7-ol (400 mg, 1,3 mmol), 4-(3-cloropropil)morfolina (3-5a) (640 mg, 3,9 mmol) y carbonato de potasio (540 mg, 3,9 mmol) a DMF (50 ml), la mezcla se calentó a 80 °C y reaccionó durante dos horas, después se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron por evaporación rotatoria, y luego se sometieron a una columna para dar 380 mg (67 %) de 3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)anilina. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,60 (s, 1 H), 7,53 (s, 1 H), 7,31 (s, 1 H), 7,05 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,49 (dd, J = 2,4, 12,0 Hz, 1 H), 6,41 (dd, J = 2,4, 8,8 Hz, 1 H), 4,26 (t, J = 6,4 Hz, 2 H), 4,02 (s, 3 H), 3,71 (t, J = 4,4 Hz, 4 H), 2,56 (t, J = 7,2 Hz, 2 H), 2,47 (s, 4 H), 2,11 (m, 2 H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 428 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Paso b4: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL134)

3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)anilina (450 mg, 1 mmol), el ácido 1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico (277 mg, 1,2 mmol), HATU (570 mg, 1,5 mmol) y DIEA (0,5 ml, 3 mmol) se disolvieron en 30 ml de DMF, y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua helada a la solución de la reacción y luego se precipitó un sólido. La mezcla se filtró y el sólido se extrajo dos veces con diclorometano. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con salmuera saturada, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se secaron por evaporación rotatoria, y se sometieron a cromatografía en columna para dar 478 mg (72 %) de un sólido blanco.

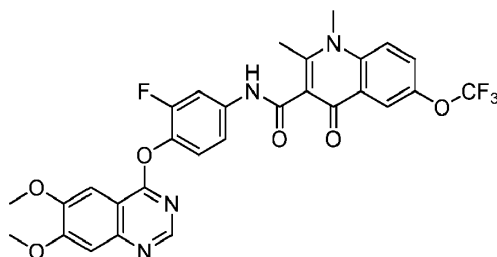
**Ejemplo 2: Preparación de *N*-(4-((6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL197)**



5 El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,78 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,12 - 8,04 (m, 2H), 7,94 (dd,  $J$  = 12,8, 2,3 Hz, 1H), 7,82 (dd,  $J$  = 9,3, 3,0 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,53 - 7,39 (m, 3H), 4,35 (ddd,  $J$  = 9,1, 4,4, 2,7 Hz, 4H), 3,88 (s, 3H), 3,77 (q,  $J$  = 4,9 Hz, 4H), 3,36 (s, 5H), 2,63 (s, 3H).

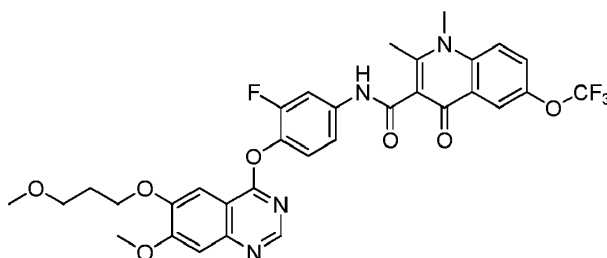
10 **Ejemplo 3: Preparación de *N*-(4-((6,7-dimetoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL198)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

15  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,78 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,07 (d,  $J$  = 12,0 Hz, 2H), 7,94 (d,  $J$  = 12,7 Hz, 1H), 7,83 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,54 - 7,34 (m, 3H), 4,00 (s, 6H), 3,88 (s, 3H), 2,63 (s, 3H).

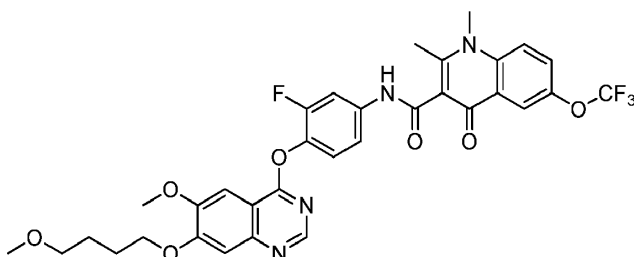
**Ejemplo 4: Preparación de *N*-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL199)**



20 El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta$  12,32 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 2,7 (s, 1H), 7,98 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 1H), 7,68 (d,  $J$  = 9,3 Hz, 1H), 7,64 (dd,  $J$  = 18,3, 10,7 Hz, 2H), 7,47 (dd,  $J$  = 14,2, 7,4 Hz, 1H), 7,33 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 1H), 7,28 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 1H), 4,32 - 3,86 (m, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,95 (s, 1H), 3,62 (t,  $J$  = 12,3 Hz, 1H), 3,38 (t,  $J$  = 12,3 Hz, 1H), 3,11 (s, 1H), 2,22 (s, 1H), 1,40 (s, 1H).

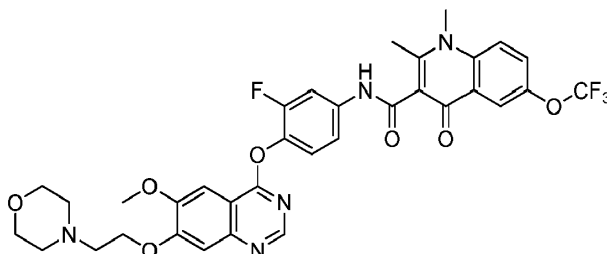
25 **Ejemplo 5: Preparación de *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(4-metoxibutoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL204)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,32 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 2,9 (s, 2H), 7,98 (dd, *J* = 12,4, 2,4 Hz, 1H), 7,67 (dd, *J* = 5,6, 9,4 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 7,56 (s, 2H), 7,43 (d, *J* = 1,2 Hz, 2H), 7,30 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 4,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,95 (dd, *J* = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 3,48 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,11 - 2,14 (m, 1H), 2,10 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 1,88 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H)

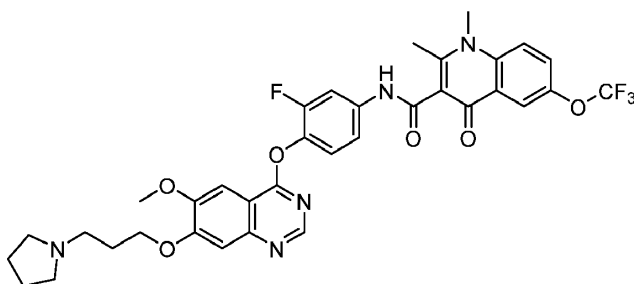
**Ejemplo 6: Preparación de *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-morfolinoetoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL209)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,34 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 2,9 (s, 2H), 7,99 (dd, *J* = 12,4, 2,4 Hz, 4H), 7,68 - 7,55 (m, 4H), 7,44 (d, *J* = 1,3 Hz, 4H), 7,33 (s, 2H), 4,06 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,78 (d, *J* = 5,2 Hz, 4H), 3,12 (s, 3H)

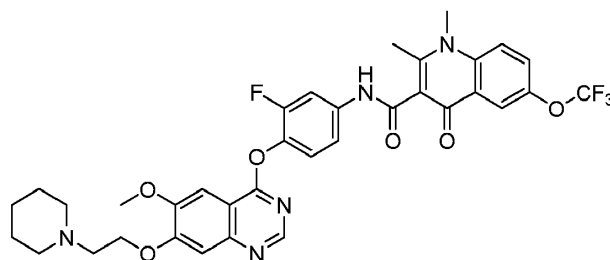
**Ejemplo 7: Preparación de *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(pirrolidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL212)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,33 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 7,99 (dd, *J* = 12,3, 2,4 Hz, 1H), 7,68 (dd, *J* = 5,6, 9,3 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 7,57 (s, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 4,29 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,06 (s, 1H), 3,96 (dd, *J* = 3,11, 2,4 Hz, 1H), 2,69 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H), 2,56 (s, 4H), 2,24 - 2,11 (m, 1H), 1,80 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 1,25 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H)

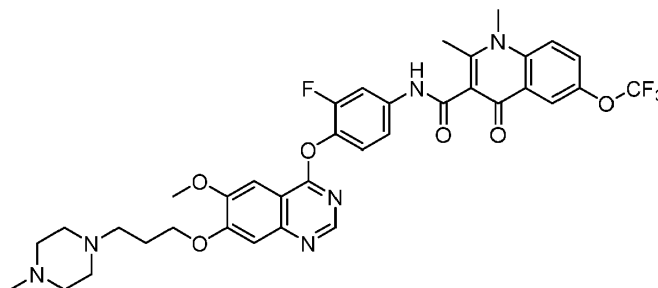
**Ejemplo 8: Preparación de *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(piperidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL213)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,32 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,38 (s, 2H), 7,99 (dd, J = 12,3, 2,4 Hz, 1H), 7,68 - 3,79 (m, 1H), 7,63 (s, 2H), 7,44 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 3,09 - 7,33 (m, 2H), 7,29 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,39 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 4,05 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,02 (s, 2H), 2,67 (s, 4H)

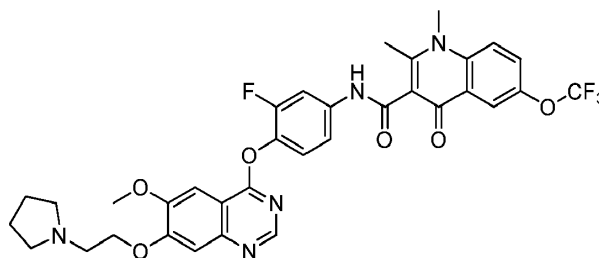
**Ejemplo 9: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(4-metilpiperazin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL238)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,80 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,94 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 7,82 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 7,59 (s, 1H), 7,50 (q, J = 2,3 Hz, 2H), 7,44 (t, J = 8,6 Hz, 4H), 7,40 - 4,24 (m, 4H), 3,99 (s, 2H), 3,88 (s, 4H), 2,63 (s, 3H), 2,45-2,33 (m, 6H), 2,15 (t, J = 6,4 Hz, 3H).

**Ejemplo 10: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(pirrolidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL231)**

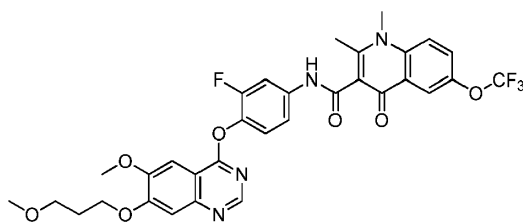


El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,30 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 2,8 (s, 2H), 7,97 (dd, J = 12,4, 2,4 Hz, 1H), 7,66 (dd, J = 5,6, 9,4 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 7,42 (s, 2H), 2,5 (d, J = 12,1 Hz, 2H), 7,28 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,35 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,93 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 3,10 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 3,09 (s, 3H), 2,73 - 2,14 (m, 1H), 1,75 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 1,85 (d, J = 9,7 Hz, 1H)

**Ejemplo 11: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL226)**

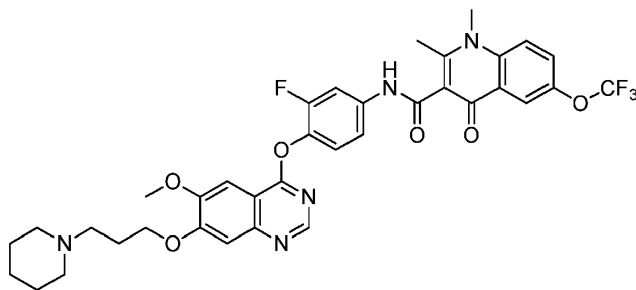
25



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,27 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,35 (s, 2H), 7,97 (dd, J = 12,3, 2,4 Hz, 1H), 7,64 - 7,58 (m, 1H), 7,56 (s, 2H), 7,41 (d, J = 1.7 Hz, 2H), 7,34 - 7,24 (m, 2H), 4,31 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 4,05 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 3,61 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 3,38 (s, 2H), 3,07 (s, 3H)

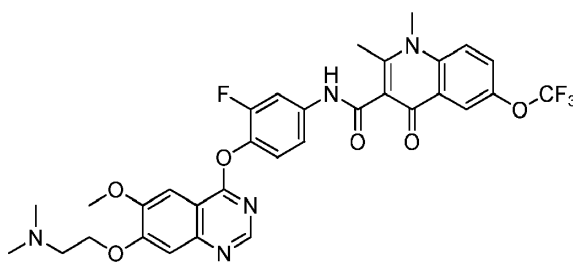
**Ejemplo 12: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(piperidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL216)**



10 El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 10,78 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,12 - 8,04 (m, 2H), 7,94 - 7,43 (m, 2H), 7,82 (d, J = 3,0 Hz, 2H), 7,59 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 4,24 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 4,00 (t, J = 2,5 Hz, 2H), 3,88 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 2,42 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,35 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 1,39 (dd, J = 6,7, 6,2 Hz, 2H).

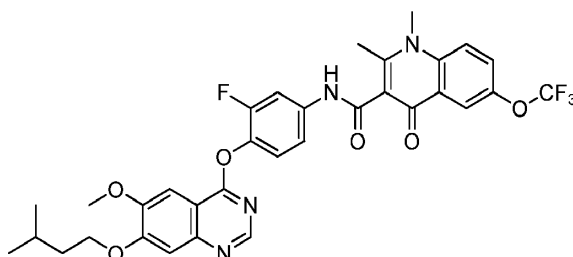
15 **Ejemplo 13: Preparación de N-(4-((7-(dimetilamino)etoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL233)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

20 <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,30 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,98 (s, 2H), 7,66 (dd, J = 7,63, 4,1 Hz, 4H), 7,46 - 7,39 (m, 4H), 7,32 (d, J = 8,5 Hz, 4H), 4,31 (s, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,09 (s, 3H), 2,92 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 2,41 (s, 6H)

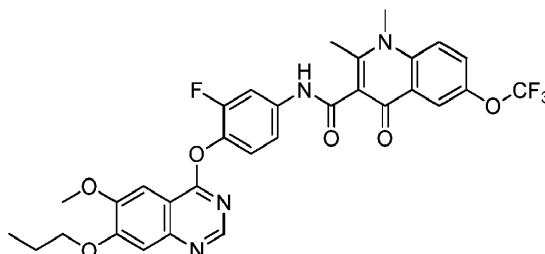
**Ejemplo 14: Preparación de N-(3-fluoro-4-((7-(isopentiloxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (nombrado como TL230)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,28 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,97 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 7,58 (dd, J = 18,3, 12,1 Hz, 2H), 7,42 (dd, J = 8,8, 7,4 Hz, 4H), 6,98 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 4,24 - 3,86 (m, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,93 (s, 1H), 3,08 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 1,94 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 1,66 (s, 1H), 1,01 (s, 1H), 1,00 (s, 1H).

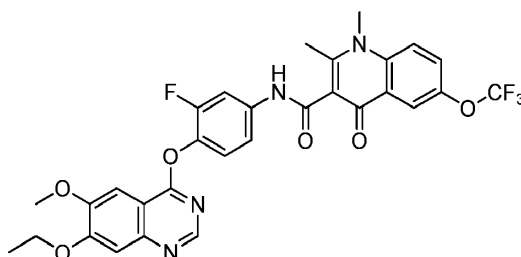
**Ejemplo 15: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-propoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL240)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,26 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,31 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,63 - 7,35 (m, 1H), 7,57 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 7,41 (dd, J = 8,8, 1,2 Hz, 2H), 7,30 (dd, J = 7,23, 2,9 Hz, 2H), 4,17 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 12,3 Hz, 2H), 1,98 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 1,10 (t, J = 7,4 Hz, 2H).

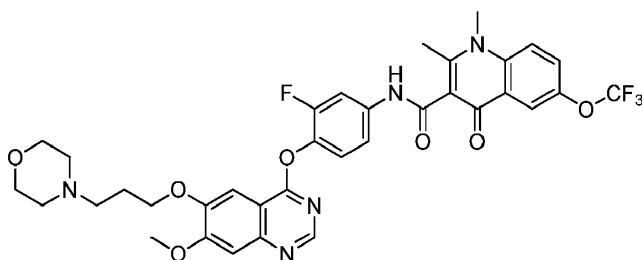
**Ejemplo 16: Preparación de N-(4-((7-etoxi-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL241)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,78 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,94 (d, J = 2,3 Hz, 2H), 7,82 (d, J = 3,0 Hz, 2H), 7,59 (s, 1H), 7,50 (q, J = 2,3 Hz, 2H), 7,45 (t, J = 8,6 Hz, 4H), 7,39 - 4,27 (m, 4H), 4,00 (s, 2H), 3,88 (s, 4H), 3,32 (s, 3H), 2,63-2,43 (m, 3H), 1,44 (t, J = 6,9 Hz, 3H).

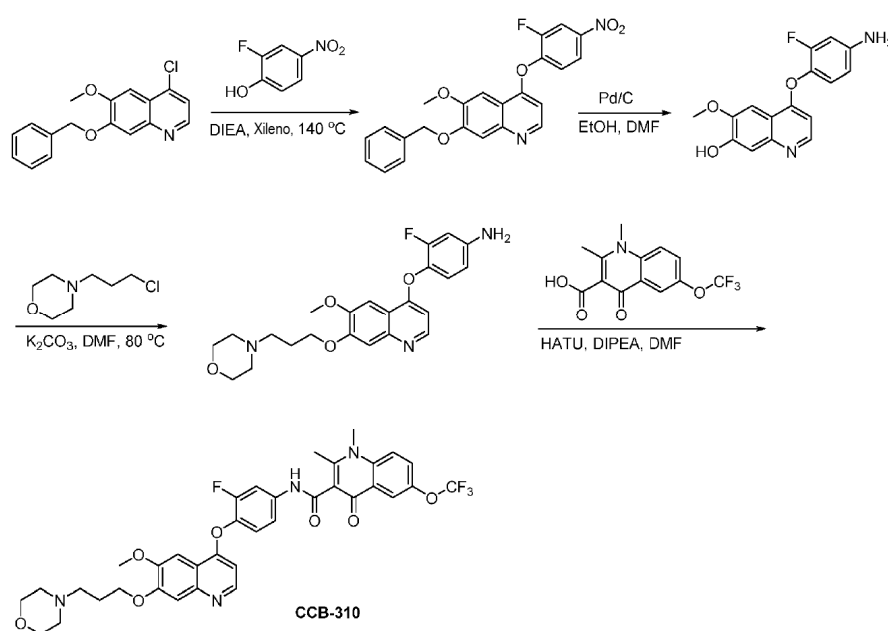
**Ejemplo 17: Preparación de N-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada TL236)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 12,33 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,34 (s, 2H), 7,99 (dd, J = 12,4, 2,4 Hz, 1H), 7,67 (dd, J = 5,6, 9,4 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,47 (s, 2H), 3,42 (d, J = 12,1 Hz, 2H), 7,29 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,29 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,04 (s, 1H), 3,95 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 3,73 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 3,10 (s, 3H), 2,59 - 2,14 (m, 1H), 2,50 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 2,14 (d, J = 9,7 Hz, 1H)

**Ejemplo 18: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada CCB-310) c**



10

**Paso c1: Preparación de 7-(benziloxi)-4-(2-fluoro-4-nitrofenoxi)-6-metoxiquinolina**

A un matraz de reacción se añadieron 7-benciloxi-4-cloro-6-metoxiquinolina (4,5 g, 15 mmol), 2-fluoro-4-nitrofenol (2,4 g, 15 mmol), DIEA (18 ml) y xileno (9 ml), la mezcla se calentó a 140 °C y reaccionó durante toda la noche, enfriándose después a temperatura ambiente. Se precipitó un sólido, luego se filtró la mezcla, se lavó con etanol y se secó por succión para dar 3,7 g (81,0 %) de un sólido blanco. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 8,56 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,45 (dd, J = 10,5, 2,5 Hz, 1H), 8,20 (m, 1H), 7,61 (dd, J = 8,8, 8,8 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,53 (m, 2H), 7,48 (s, 1H), 7,32-7,47 (m, 3H), 6,78 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 5,33 (s, 2H), 3,93 (s, 3H). MS (ESI), m/z: 421 [M+H]<sup>+</sup>.

15

**Paso c2: Preparación de 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoxiquinolin-7-ol**

Se disolvió 7-(benziloxi)-4-(2-fluoro-4-nitrofenoxi)-6-metoxiquinolina (3,0 g, 10 mmol) en 10 ml de DMF, luego se añadió Pd/C al 10 % (0,5 g) y 10 ml de etanol, y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno durante la noche. El Pd/C se eliminó por filtración, y el filtrado se concentró y se sometió a una columna para dar 1,8 g (60 %) de 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoxiquinolin-7-ol. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 10,11 (s, 1H), 8,39 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,68 - 6,40 (m, 2H), 6,32 (s, 1H), 5,49 (s, 2H), 3,95 (s, 3H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 301 [M+H]<sup>+</sup>.

20

**Paso c3: Preparación de 3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)anilina**

25

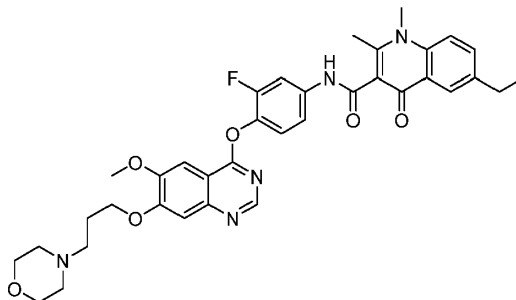
Se añadieron 4-(4-amino-2-fluorofenoxi)-6-metoquinolin-7-ol (600 mg, 2 mmol), 4-(3-cloropropil)morfolina (3- 5a) (982 mg, 6 mmol) y carbonato de potasio (828 mg, 6 mmol) a DMF (20 ml), la mezcla se calentó a 80 °C y reaccionó durante dos horas, y luego se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron por evaporación rotatoria, y luego se sometieron a una columna para dar 615 mg (72 %) de 3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)anilina. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO) δ 8,44 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,55 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,20 (dd, J = 18,3, 10,7 Hz, 1H), 6,38 (dd, J = 5,2, 7,4 Hz, 1H), 5,46 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 4,19 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 3,94 - 3,86 (m, 1H), 3,84 (s, 1H), 3,59 (s, 1H), 2,47 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,84 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,39 (s, 1H), 1,97 (s, 1H), 1,40 (s, 1H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 428 [M+H]<sup>+</sup>.

**10 Paso c4: Preparación de N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada CCB-310)**

Se disolvieron 3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi) anilina (428 mg, 1 mmol), el ácido 1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico (277 mg, 1.2 mmol), HATU (570 mg, 1.5 mmol) y DIEA (0,5 ml, 3 mmol) en 5 ml de DMF, y luego la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua helada a la solución de la reacción y luego se precipitó un sólido. La mezcla se filtró y el sólido se extrajo dos veces con diclorometano. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con salmuera saturada, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se secaron por evaporación rotatoria, y se sometieron a cromatografía en columna para dar 533 mg (75 %) de un sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ 10,92 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 10,82 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,08 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,83 (dd, J = 9,3, 2,8 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 14,2, 7,4 Hz, 2H), 7,45 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 4,21 - 3,86 (m, 1H), 3,96 (s, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,69 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,63 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,47 (s, 1H), 2,41 (s, 1H), 2,05 (s, 1H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 711 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo comparativo 1 Preparación de 6-etil-N-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (denominada GDL5000123)**



El procedimiento de síntesis se refiere al Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, *d*<sub>6</sub>-DMSO) δ 11,01 (s, 1 H), 8,56 (s, 1 H), 8,08 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,97-7,94 (dd, J = 2,0, 13,0 Hz, 1 H), 7,81 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,67-7,65 (dd, J = 2,0, 8,5 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,50 (m, 1 H), 7,44 (t, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 4,26 (t, J = 6,0 Hz, 2 H), 3,99 (s, 3 H), 3,83 (s, 3 H), 3,60 (s, 4 H), 2,77 (q, J = 7,5 Hz, 2 H), 2,65 (s, 3 H), 2,50 (m, 2 H), 2,41 (s, 4 H), 1,99 (t, J = 6,5 Hz, 2 H), 1,25 (t, J = 7,5 Hz, 2 H). (M+H)<sup>+</sup> m/z 656 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo 19: Pruebas de IC<sub>50</sub> para compuestos de quinolina y quinazolina contra la quinasa AXL**

Detección de la actividad de la quinasa: Se utilizó la tecnología de ensayo de inmunosorbente enlazado a enzima (ELISA) para detectar las actividades inhibitorias de los compuestos contra la quinasa. El sustrato de la reacción enzimática Poly(Glu, Tyr) 4:1 se diluyó a 20 µg/ml con PBS sin potasio (tampón de fosfato sódico 10 mM, 150 mM NaCl, pH 7,2-7,4), y la placa de etiquetado enzimático se recubrió con 125 µl/pocillo, y luego se incubó a 37 °C durante 12-16 horas. Después de desechar el líquido del pocillo, la placa se lavó tres veces con T-PBS (PBS con 0,1 % de Tween-20), 200 µl de T-PBS por pocillo, 5 minutos por cada vez. La placa con la etiqueta enzimática se secó en una estufa a 37 °C durante 1-2 horas. A cada pocillo se añadieron 50 µl de solución de ATP diluida con tampón de reacción (50 mM HEPES, pH 7,4, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM MnCl<sub>2</sub>, 0,2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1 mM DTT) con una concentración final de 5 µM. Los compuestos de prueba se diluyeron con DMSO hasta una concentración adecuada, como 1 µl/pocillo o con la concentración correspondiente de DMSO (pocillo de control negativo), y luego se añadió la proteína recombinante del dominio de la quinasa AXL (eurofins, 14-512) diluida con 49 µl de tampón de reacción para iniciar la reacción. Para cada experimento se necesitan dos pocillos sin enzima como control. La placa se incubó en un agitador (100 rpm) a 37 °C y reaccionó durante 1 hora. Las placas se lavaron tres veces con 1X PBS. se añadieron 100 µl/pocillo de la dilución del anticuerpo primario PY99 y la placa se hizo reaccionar en un agitador a 37 °C durante 0,5 horas. Las placas se lavaron tres veces con 1X PBS. se añadieron 100 µl/pocillo de anticuerpo secundario de dilución de IgG anti-ratón de cabra marcada con peroxidasa de rábano picante. y la placa se hizo reaccionar en un agitador a 37 °C durante 0,5 horas. Las placas se lavaron tres veces con 1X PBS. se añadieron 2 mg/ml de solución de color OPD con 100 µl/pocillo (diluida con tampón de ácido cítrico y citrato de sodio 0,1 M (pH=5,4) que contenía 0,03 % de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), y

la placa se hizo reaccionar a 25 °C en la oscuridad durante 1-10 minutos. (Se requiere ultrasonido para la disolución de la OPD, y la solución de color debe ser preparada para su uso inmediato). se añadieron 50 µl/pocillo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M para detener la reacción, y se utilizó el instrumento de etiquetado enzimático SPECTRA MAX 190, de longitud de onda ajustable, para leer los datos a una longitud de onda de 490 nm.

- 5 La tasa de inhibición de la muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de inhibición (\%)} \text{ de la muestra} = \left(1 - \frac{\text{valor OD del compuesto} - \text{valor OD del pocillo de control sin enzima}}{\text{valor OD del pocillo de control negativo} - \text{valor OD del pocillo de control sin enzima}}\right) \times 100$$

Los valores IC<sub>50</sub> se obtuvieron por regresión con el procedimiento de cuatro parámetros utilizando el software adjunto al instrumento de etiquetado de enzimas.

- 10 En los experimentos de competencia de los compuestos de quinoleína y quinazolina con ATP, todos los compuestos exhibieron fuertes actividades inhibitorias contra la quinasa AXL (los resultados se muestran en la Tabla 1). En cuanto a la modificación de los sustituyentes R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> en la fórmula general (I), se ha encontrado que cuando R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son sustituyentes hidrofílicos, los compuestos tienen mejores actividades inhibitorias y pueden tolerar mayores modificaciones de los sustituyentes. Los compuestos R<sub>428</sub> y AC220 son ejemplos de referencia con fines comparativos.

- 15 Tabla 1 - Número de los compuestos y resultados correspondientes de las actividades inhibitorias contra la quinasa.

Compuestos	IC <sub>50</sub> de AXL (nM)
TL-209	2,0
TL-212	1,5
TL-199	1,8
TL-213	2,2
TL-197	4,2
TL-198	2,1
TL-204	1,6
TL-134	1,1
CCB-310	1,8
GDL5000123	1,2
R <sub>428</sub>	4,2

**Ejemplo 20: Pruebas de IC<sub>50</sub> para compuestos de quinolina y quinazolina contra la quinasa AXL (tecnología Z'-LYTE™)**

- 20 Detección de la actividad de la quinasa: las actividades inhibitorias de los compuestos contra la quinasa AXL (eurofins, 14-500) se detectaron mediante una reacción de segundo orden por la tecnología Z'-LYTE™ (detectada por fluorescencia, forma acoplada a la enzima, basada en la diferencia de sensibilidad de los polipéptidos fosforilados y no fosforilados a la escisión proteolítica), basada en el principio de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), utilizando el sustrato peptídico Z'-LYTE™ FRET (Z'-LYTE™ Tyrosine 6 Peptide Substrate, Invitrogen, PV4122).

- 25 Reacción enzimática: A una placa de 384 pocillos se añadieron 5 µl de sistema enzima-sustrato (50 mM HEPES, pH 6,5, 0,01 % BRIJ-35, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA, 0,02 % NaN<sub>3</sub>), y se transfirieron a ella 5 nL de un compuesto (gradiente de concentración) utilizando un sistema de pipeteo ultramicro-líquido echo520. Después de agitar la placa a temperatura ambiente durante 10-20 minutos, se transfirieron 25 nL de ATP (una concentración final de 50 µM)

utilizando el sistema de pipeteo ultramicro-líquido echo520. Tras agitar y mezclar bien, la mezcla se centrifugó y reaccionó a 30 °C en la oscuridad durante 1,5 h.

Reacción de detección: Se añadieron 2,5 µl de solución de desarrollo (dilución 1:128) a cada pocillo y la placa se incubó a 37 °C en la oscuridad durante 1 hora, después se añadieron 5 µl de reactivo de parada.

- 5 Lectura de la placa: las señales fluorescentes se detectaron utilizando el lector de placas multimodo Perkin Elmer EnVision (la longitud de onda de excitación es de 400 nm, las longitudes de onda de emisión son de 460 nm, 535 nm).

Cálculo: la tasa de inhibición de cada pocillo se calculó a partir de los pocillos totalmente activos y de los pocillos de señal de control. El procedimiento de análisis de datos es el siguiente

$$\text{Relación de fosforilación} = 1 - \left\{ (\text{relación de emisión} \times F100\% - C100\%) / [C0\% - C 100\% + \text{relación de emisión} \times (F100\% - F0\%)] \right\} \times 100;$$

10 
$$\text{Tasa de inhibición} = 100 \times (1 - \text{relación de fosforilación del compuesto} / \text{relación de fosforilación del control negativo}).$$

Los valores IC<sub>50</sub> se calcularon con el software GraphPad Prism.

- 15 En los experimentos de competencia de los compuestos de quinoleína y quinazolina con ATP, todos los compuestos exhibieron fuertes actividades inhibitorias contra la quinasa AXL (los resultados se muestran en la Tabla 2). En cuanto a la modificación de los sustituyentes R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> en la fórmula general (I), se ha encontrado que cuando R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son sustituyentes hidrofílicos, los compuestos tienen mejores actividades inhibitorias y pueden tolerar mayores modificaciones de los sustituyentes.

Tabla 2 - Número de los compuestos y resultados correspondientes de las actividades inhibitorias contra la quinasa.

Compuestos	IC <sub>50</sub> de AXL (nM)
TL-216	1,5
TL-226	4,7
TL-230	59,4
TL-231	2,3
TL-233	1,9
TL-236	2,4
TL-238	1,2
TL-240	6,1
TL-241	2,6
R <sub>428</sub>	5,5

**Ejemplo 21: Pruebas de IC<sub>50</sub> para los compuestos de quinolina y quinazolina contra la quinasa Flt3**

- 20 Detección de la actividad de la quinasa: las actividades inhibitorias de los compuestos contra la quinasa Flt3 (vida, PV6253) se detectaron mediante una reacción de segundo orden por la tecnología Z'-LYTE™ (detectada por fluorescencia, forma acoplada a la enzima, basada en la diferencia de sensibilidad de los polipéptidos fosforilados y no fosforilados a la escisión proteolítica), basada en el principio de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), utilizando el sustrato peptídico Z'-LYTE™ FRET (Z'-LYTE™ Tyrosine 2 Peptide Substrate, Invitrogen, PV3191).
- 25

Reacción enzimática: A una placa de 384 pocillos se añadieron 5 µl de sistema enzima-sustrato (50 mM HEPES, pH 7,5, 0,01 % BRIJ-35, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA), 2,5 µl de un compuesto (gradiente de concentración) y 2.5 µl de una solución mixta de ATP (una concentración final de un sustrato Z'-LYTE™ Tyrosine 2 Peptide Substrate fue de 2 µM, y una concentración final de ATP fue de 500 µM), y luego la placa se incubó a 37 °C en la oscuridad durante 1 h.

- 5 Reacción de detección: se añadieron 5 µl de solución de desarrollo (dilución 1:64) a cada pocillo y la placa se incubó a 37 °C en la oscuridad durante 1 hora, después se añadieron 5 µl de reactivo de parada.

Lectura de la placa: las señales fluorescentes se detectaron utilizando el lector de microplacas Synergy HI (la longitud de onda de excitación es 400 nm, la de emisión es 445 nm, 535 nm).

- 10 Cálculo: la tasa de inhibición de cada pocillo se calculó a partir de los pocillos totalmente activos y de los pocillos de señal de control. El procedimiento de análisis de datos es el siguiente

$$\text{Relación de fosforilación} = 1 - \left\{ \frac{(\text{relación de emisión} \times F100\% - C100\%)}{[C0\% - C100\% + \text{relación de emisión} \times (F100\% - F0\%)]} \right\} \times 100;$$

$$\text{Tasa de inhibición} = 100 \times \left( 1 - \frac{\text{relación de fosforilación del compuesto}}{\text{relación de fosforilación del control negativo}} \right).$$

Los valores IC<sub>50</sub> se calcularon con el software GraphPad Prism.

- 15 En los experimentos de competencia de los compuestos de quinoleína y quinazolina con ATP, todos los compuestos mostraron fuertes actividades inhibitorias contra la quinasa Flt3 (los resultados se muestran en la Tabla 3). En cuanto a la modificación de los sustituyentes R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> en la fórmula general (I), se ha encontrado que cuando R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son sustituyentes hidrofílicos, los compuestos tienen mejores actividades inhibitorias y pueden tolerar mayores modificaciones de los sustituyentes.

Tabla 3 - Número de los compuestos y resultados correspondientes de las actividades inhibitorias contra la quinasa.

Compuestos	IC <sub>50</sub> de Flt3 (nM)
TL-209	9,2
TL-212	5,2
TL-199	25,8
TL-213	6,4
TL-197	4,7
TL-198	2,3
TL-204	11,2
TL-134	1,9
CCB-310	9,5
GDL5000123	10,0
AC220	10,3

20

#### Ejemplo 22: Efectos de los compuestos de quinolina y quinazolina en la proliferación de las células MV4-11

Los efectos inhibitorios de los compuestos sobre la proliferación de las células MV4-11 se detectaron mediante un kit de recuento de células CCK-8 (Dojindo). Los pasos específicos son los siguientes: Las células MV4-11 en fase logarítmica se sembraron en una placa de cultivo de 96 pocillos a una densidad adecuada de 90 µl por pocillo. Tras el

5 cultivo de una noche, se añadieron los compuestos a diferentes concentraciones para que actuaran durante 72 horas, y se estableció un grupo de control con disolvente (control negativo). Tras 72 h de actuación de los compuestos sobre las células, se detectaron los efectos de los compuestos sobre la proliferación celular utilizando el kit de recuento celular CCK-8 (Dojindo). se añadieron 10 µl de reactivo CCK-8 a cada pocillo y se colocó la placa en una incubadora a 37 °C durante 2-4 horas. A continuación, se utilizó un instrumento de etiquetado enzimático de microplacas de longitud de onda completa SpectraMax 190 para leer con una longitud de onda de medición de 450 nm.

La tasa de inhibición (%) del compuesto sobre el crecimiento de las células tumorales se calculó mediante la siguiente fórmula

$$\text{Tasa de inhibición (\%)} = \frac{\text{pocillo de control OD} - \text{pocillo de administración OD}}{\text{pocillo de control OD}} \times 100\%$$

10 Los valores IC<sub>50</sub> se obtuvieron por regresión con el procedimiento de cuatro parámetros utilizando el software adjunto al instrumento de etiquetado de enzimas.

Los compuestos de quinoleína y quinazolina mostraron fuertes actividades inhibitorias contra las células de leucemia MV4-11 (los resultados se muestran en la Tabla 4).

Tabla 4 - Valores IC<sub>50</sub> de las inhibiciones de los compuestos contra la proliferación de las células MV4-11.

Compuestos	IC <sub>50</sub> (nM)
TL-134	<0,4
AC220	<4

15 **Ejemplo 23: Estudio comparativo de las especies del metabolismo de los compuestos de quinolina y quinazolina en los hepatocitos**

20 En este ejemplo, se utilizó un procedimiento UPLC-UV/Q-TOF MS para evaluar las diferencias en los procesos metabólicos del TL134 en hepatocitos de cinco especies de humanos, monos, caninos, ratas y ratones. Proporciona una referencia para la selección de la farmacocinética preclínica y los estudios de evaluación de la seguridad de las especies animales.

Los materiales y procedimientos son las siguientes:

### 1. Medicamentos y reactivos

TL134	Ejemplo 1 de Preparación
Hepatocitos humanos primarios mixtos (lote nº 1410266)	Empresa Xenotech, Estados Unidos
Hepatocitos primarios mixtos de macaca fascicularis (lote nº IXCH)	Empresa RILD
Hepatocitos primarios mixtos caninos de beagle macho (lote nº 1410275)	Empresa Xenotech, Estados Unidos
Hepatocitos primarios mixtos de rata SD macho (Nº de lote 1210260)	Empresa Xenotech, Estados Unidos
Hepatocitos primarios mixtos de ratón CD-1 (lote nº 1510134)	Empresa Xenotech, Estados Unidos
Acetato de amonio (cromatográficamente puro)	Empresa ROE, Estados Unidos
Acetonitrilo (cromatográficamente puro)	Merck Company, Alemania
Ácido fórmico (cromatográficamente puro)	Empresa Fluka, Alemania

### 25 2. Sistemas de incubación para estudios de metabolismo in vitro

El volumen total de cada muestra de incubación fue de 100 µl, el medio fue el medio WME (pH 7,4), y la muestra de incubación incluyó hepatocitos con una densidad celular de 1,0×10<sup>6</sup> células/ml y TL134 con una concentración final

de 3,0  $\mu\text{M}$ ; la muestra de control negativo se incubó con hepatocitos mixtos inactivados térmicamente (sin recuento de células) de cinco especies de animales y TL134, y la muestra de control tampón se incubó con medio WME y TL134. Todas las muestras se incubaron a 37 °C durante 180 minutos y, a continuación, se añadieron 100  $\mu\text{l}$  de acetonitrilo frío para detener la reacción. Las muestras se almacenaron a -70 °C hasta que estuvieron listas para ser analizadas, y todas las muestras de incubación fueron dobles.

### 3. Instrumentos y condiciones

Espectrómetro de masas en tándem de tiempo de vuelo cuádruple TOF 5600<sup>+</sup> (Q-TOF MS), equipado con fuente de ionización por electrospray (fuente ESI) y sistema de calibración automática CDS, AB SCIEX Company, EE.UU.; sistema de cromatografía líquida Acquity UPLC, que incluye bomba de infusión binaria, automuestreador, horno de columnas, desgasificador y detector ultravioleta TUV, Waters Company, EE.UU.

Condiciones cromatográficas: la columna cromatográfica fue ACQUITY™ HSS T3 C18 (100 × 2,1 mm I.D., 1,8  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula), Waters Company, EE.UU.; la temperatura de la columna fue de 40 °C; el caudal fue de 0,4 ml/min; la longitud de onda de detección UV fue de 254 nm; el gradiente de la fase móvil se muestra en la tabla siguiente.

Tiempo (min)	A (acetato de amonio 5 mM que contiene 0,1 % de ácido fórmico, %)	B (acetonitrilo, %)
0	90	10
1-	90	10
8,5	46	54
9,5	5	95
10,5	5	95
11,5	90	10
15	90	10

Condiciones de espectrometría de masas: fuente de ionización por electrospray (ESI), detección con barrido de iones positivos (modo de alta sensibilidad), GAS1: 55 psi, GAS2: 50 psi, Cortina GAS: 40 psi, la temperatura de la fuente era de 500 °C, el voltaje de pulverización de iones (ISVF) era de 5500 V con un voltaje de desclasificación de 80 V, la energía de colisión era de 10 eV durante el barrido completo del primer nivel, y la energía de colisión era de 20 ± 10 eV durante el barrido de iones producto, el intervalo de barrido era de m/z 80-1000, se utilizó el sistema de calibración automática (CDS) con procedimiento de estándar externo para la corrección del número de masa.

### 4. Pretratamiento de la muestra

Las muestras dobles de la solución de incubación de hepatocitos de cada especie se tomaron en su totalidad y se combinaron, se mezclaron en vórtex durante 1 minuto y se centrifugaron durante 5 minutos (14.000 rpm), luego se tomó todo el sobrenadante, se transfirió a un tubo de ensayo de 10 ml y se secó bajo un flujo de nitrógeno a 40 °C. A continuación, el residuo se disolvió en 150  $\mu\text{l}$  de acetonitrilo-agua (10 : 90, v/v), se centrifugó durante 5 minutos (14.000 rpm) y se tomaron 5,0  $\mu\text{l}$  del sobrenadante para el análisis UPLC-UV/Q-TOF MS. Las muestras de control negativo y las muestras de control de tampón se procesaron de la misma manera que las muestras de incubación de hepatocitos.

### 5. Análisis de datos

Para la adquisición de datos se utilizaron los softwares Analyst ®TFV1.6 de la empresa AB Sciex y Masslynx V4.1 de la empresa Waters, y para el análisis de datos se utilizaron los softwares PeakView ® V1.2 y MetabolitePilot V1.5 de la empresa AB Sciex.

### 6. Resultados experimentales:

Los datos de los fluidos de incubación de hepatocitos de TL134 en humanos, monos, caninos, ratas y ratones fueron procesados utilizando el software MetabolitePilot para obtener los espectros de metabolitos relacionados (FIG. 1 y FIG.2), y los cromatogramas ultravioleta se muestran en las FIG.3 y FIG.4. Los metabolitos se nombran en orden de su relación masa-carga, de menor a mayor, y los metabolitos con la misma relación masa-carga se nombran en orden

de los tiempos de retención cromatográfica, de adelante hacia atrás, las informaciones de UPLC-UV/Q-TOF MS de TL134 y los metabolitos en los sistemas de incubación de hepatocitos se muestran en la Tabla 5.

Los metabolismos del compuesto GDL5000123 en los hepatocitos de las especies mono y canina fueron evaluados por el mismo procedimiento y condiciones descritas anteriormente. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 5 - Información relacionada con UPLC-UV/Q-TOF MS de los metabolitos de TL134 en hepatocitos de cinco especies de humanos, monos, caninos, ratas y ratones

Vía metabólica	Relación masa-carga	Fórmula molecular	Desviación de masa (ppm)	Tiempo de Retención (min)	Área de pico LC-MS ( $\times 10^3$ )					
					Hepatocitos mixtos termo-inactivados	Humano	Mono	Canino	Rata	Ratón
M0	prototipo de fármaco amida	C <sub>35</sub> H <sub>33</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> F <sub>4</sub>	2,8	7,37	1750	708	920	832	1130	1970
M1	hidrólisis de enlaces	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>4</sub> F <sub>3</sub>	1,3	7,53		19,2	8,32	7,95	13,1	10,4
M2	(ácido) O-desalquilación amida	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> F <sub>4</sub>	0,6	7,19		16,9	6,71	5,16	12,3	16,2
M3	hidrólisis de enlaces (ácido)	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> F	1,0	4,38		7,93	2,80	2,34	3,70	6,25
M4	anillo de O-despropil morfolina	C <sub>28</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> F <sub>4</sub>	1,1	8,73		33,2	10,5	18,5	20,6	9,03
M5	anillo de emorfolina oxidado (ácido)	C <sub>31</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> F <sub>4</sub>	-1,7	8,74		0,06	3,64	21,7	1,91	0,03
M6	N-desmetilación	C <sub>34</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> F <sub>4</sub>	2,3	8,16						1,23
M7	Deshidrogenación mono-oxidativo	C <sub>35</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>8</sub> F <sub>4</sub>	0,9	8,98					2,11	2,57
M8	mono-oxidación	C <sub>35</sub> H <sub>33</sub> N <sub>5</sub> O <sub>8</sub> F <sub>4</sub>	1,0	7,49		198	19,1	99,7	235	35,5

Área de pico cromatográfico UV						
	Hepatocitos mixtos termoinactivados	Humana	Mono	Canino	Rata	Ratón
M0	Prototipo	467	406	270	236	315 577
M4/M5	Anillo de O-despropil morfolina/anillo de desmorfolina oxidada (ácido)	*	*	*	*	*
M8	mono-oxidación	88	13	43	78	18

\*: Se detectaron los metabolitos relacionados, pero las áreas de los picos UV de los mismos no pueden integrarse con precisión debido a la interferencia de la matriz

Tabla 6 - Información relacionada con UPLC/Q-TOF MS de los metabolitos de GDL5000123 en hepatocitos de ambas especies de mono y canino

Vía metabólica	Relación masa/carga	Fórmula I	Desviación molecular de la masa (ppm)	Tiempo retención (min)	Área de pico LC-MS ( $\times 10^3$ )	
					inactivado	Mono Canino
M0	prototipo de fármaco	$C_{36}H_{38}N_5O_6F$	1,5	8,07	166	218
M1	anillo de desmorfolina oxidado	$C_{32}H_{29}N_4O_7F$	-2,4	9,43	2,57	5,84
M2	mono-oxidación	$C_{32}H_{29}N_4O_8F$	0	7,33	1,19	3,42
M3	deshidrogenación	$C_{36}H_{36}N_5O_6F$	-0,2	7,74	1,35	1,01
M4	deshidrogenación mono-oxidativa	$C_{36}H_{36}N_5O_7F$	0,2	6,41	1,76	0,92
M5-1	mono-oxidación	$C_{36}H_{38}N_5O_7F$	1,0	5,96	25,8	
M5-2	mono-oxidación	$C_{36}H_{38}N_5O_7F$	1,6	6,03	22,4	23,3
M6-1	doble oxidación	$C_{36}H_{38}N_5O_8F$	0,5	5,20	1,41	
M6-2	doble oxidación	$C_{36}H_{38}N_5O_8F$	0,2	6,19		2,26
M8	deshidrogenación dual-oxidativa	$C_{36}H_{36}N_5O_8F$	0,3	6,57		0,88
Área de picos UV						
M0	prototipo de fármaco				129	144
M5-1	mono-oxidación					102
M5-2	mono-oxidación				32,3	53,7

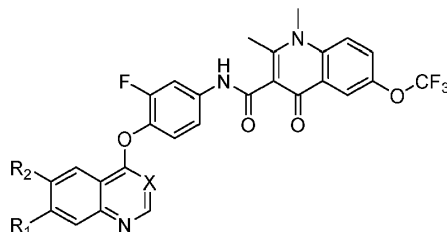
5 Análisis de los datos experimentales: a juzgar por las áreas de los picos cromatográficos UV, después de incubar el compuesto GDL5000123 con los hepatocitos de mono y canino durante 180 minutos, respectivamente, se había metabolizado aproximadamente el 41,3 % y el 27,2 % del fármaco prototipo en cada sistema de incubación a juzgar por las áreas de los picos cromatográficos UV, después de incubar el compuesto TL134 con los hepatocitos de humanos, monos, caninos, ratas y ratones durante 180 minutos, se metabolizó aproximadamente el 17,8 %, el 4,6 %, el 15,4 %, el 19,8 % y el 3,0 % del fármaco prototipo en cada sistema de incubación, respectivamente. Se puede ver que, la introducción de trifluorometoxi en lugar de etilo en el fragmento molecular de quinolona puede mejorar significativamente la estabilidad del compuesto, mejorar la estabilidad metabólica del compuesto, y aumentar la exposición, por lo que puede mejorar la eficacia farmacológica in vivo del compuesto, y puede reducir la dosis con el mismo efecto farmacológico.

10 Cada una de las características técnicas de los ejemplos anteriores puede combinarse arbitrariamente. Para simplificar la descripción, no se describen todas las combinaciones posibles de cada una de las características técnicas de los ejemplos anteriores. Sin embargo, todas las combinaciones de estas características técnicas deben considerarse dentro del alcance de esta divulgación, siempre que dichas combinaciones no se contradigan entre sí.

15 Los ejemplos mencionados anteriormente son meramente ilustrativos de varias realizaciones de la presente divulgación, que se describen específicamente y en detalle, pero no debe entenderse que limiten el ámbito de la presente divulgación. Cabe señalar que, para las personas con experiencia normal en la técnica, pueden realizarse diversas variaciones y mejoras sin apartarse del concepto de la presente divulgación, y todas ellas están dentro del ámbito de protección de la presente divulgación. Por lo tanto, el ámbito de protección de la presente divulgación se  
20 definirá mediante las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de quinoleína o quinazolina con una estructura representada por una fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo:



(I)

5 en el que X se selecciona entre CH y N;

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, - (CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub> y -O(CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;  
donde o es un número entero de 2 a 6.

10 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> y R<sub>8</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -(C=O)-NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -COOR<sub>8</sub>, -SOM-NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -CHR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -OR<sub>8</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, o bien, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> junto con N conectado a ellos forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros; en el que, el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; en el que R<sub>10</sub> se selecciona de un grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>;

15 o bien, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> forman un cicloalquilo alifático C<sub>5</sub>~C<sub>18</sub> sustituido o no sustituido que contiene de 1 a 4 heteroátomos.

2. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, o un análogo deuterado del mismo, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno independientemente -O(CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

20 R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, -OR<sub>8</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan cada uno, de forma independiente, del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, o, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> junto con N conectado a ellos forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros; en el que, el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 8 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; en el que R<sub>10</sub> se selecciona de un grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>.

25 sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; en el que R<sub>10</sub> se selecciona de un grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>.

3. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo, en el que R<sub>1</sub> es -O(CH<sub>2</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

o es un número entero de 0 a 4; R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

30 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan cada uno independientemente de un grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>, o R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> junto con N conectado a ellos forman un grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 6 miembros; en el que el grupo heterocíclico saturado o insaturado de 5 a 6 miembros puede estar independiente y opcionalmente sustituido con uno o más R<sub>10</sub>; en el que R<sub>10</sub> se selecciona de un grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>.

4. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, o un análogo deuterado del mismo, en el que R<sub>1</sub> se selecciona de un grupo que consiste en metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-metoxietoxilo, 3-metoxipropoxilo, 3-morfolinopropoxilo, 2-(pirrolidin-1-il)etoxilo, 3-(pirrolidin-1-il)propoxilo, (piperidin-1-il)etoxilo, (piperidin-1-il)propoxilo, 4-metoxibutoxilo, 2-morfolinoetoxilo, (4-metilpiperazin-1-il)propoxilo, dimetilaminoetoxilo e isopentiloxilo.

5. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo, en el que R<sub>2</sub> es -O(CH<sub>2</sub>)<sub>o</sub>R<sub>3</sub>;

o es un número entero de 2 a 4.

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en: -H, alquilo C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> y -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub>, junto con N conectado a ellos, forman un grupo heterocíclico saturado de 5 a 6 miembros.

6. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, o un análogo deuterado del mismo, en el que R<sub>2</sub> se selecciona de un grupo que consiste en metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-metoxietoxilo, 3-metoxipropoxilo, 2-morfolinoetoxilo y 3-morfolinopropoxilo.

7. El compuesto de quolina o quinazolina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo, en el que X es N.

8. El compuesto de quinoleína o quinazolina de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo, en el que el compuesto de quinoleína o quinazolina se selecciona del grupo que consiste en:

- 5
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinazofin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(4-((6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 10 *N*-(4-((6,7-dimetoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 15 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(4-metoxibutoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-morfolinoetoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-pirrolidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 20 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(piperidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(4-metilpiperazin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 25 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(2-(pirrolidin-1-il)etoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-metoxipropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-(piperidin-1-il)propoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 30 *N*-(4-((7-(2-(dimetilamino)etoxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((7-(isopentiloxi)-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- 35 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-propoxiquinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(4-((7-etoxi-6-metoxiquinazolin-4-il)oxi)-3-fluorofenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida,
- N*-(3-fluoro-4-((7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida, y
- 40 *N*-(3-fluoro-4-((6-metoxi-7-(3-morfolinopropoxi)quinolin-4-il)oxi)fenil)-1,2-dimetil-4-oxo-6-(trifluorometoxi)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida.

9. Una composición farmacéutica que comprende un ingrediente activo y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el ingrediente activo comprende el compuesto de quinolina o quinazolina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo.

10. Un compuesto de quinolina o quinazolina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un análogo deuterado del mismo o la composición farmacéutica de la reivindicación 9 para su uso en la prevención o el tratamiento de un tumor.

11. El compuesto de quinolina o quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, o un análogo deuterado del mismo o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10, en la que el tumor es un tumor hematológico, un tumor del estroma gastrointestinal, linfoma histiocítico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de piel, carcinoma de células epiteliales o carcinoma nasofaríngeo.

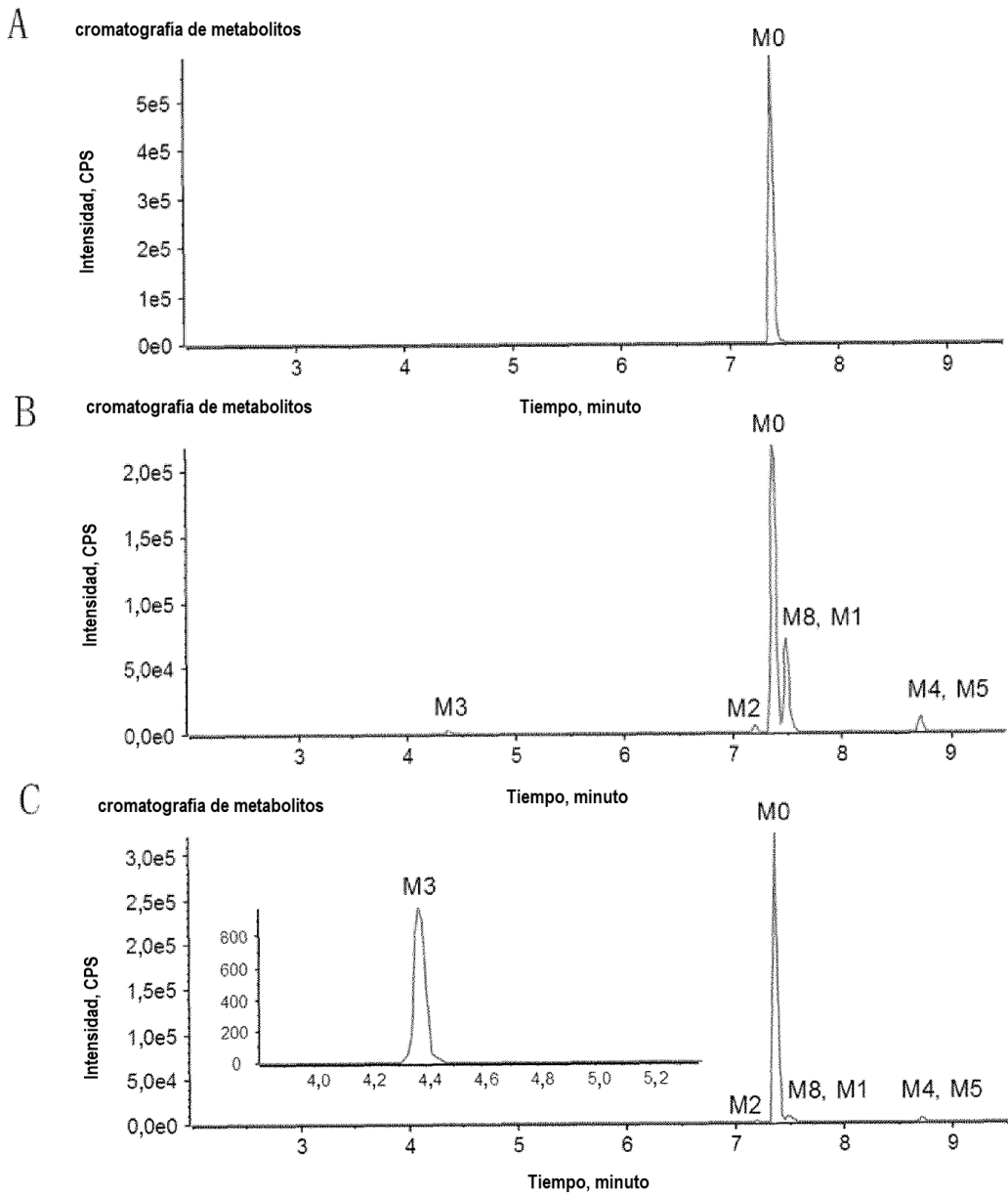


FIG.1

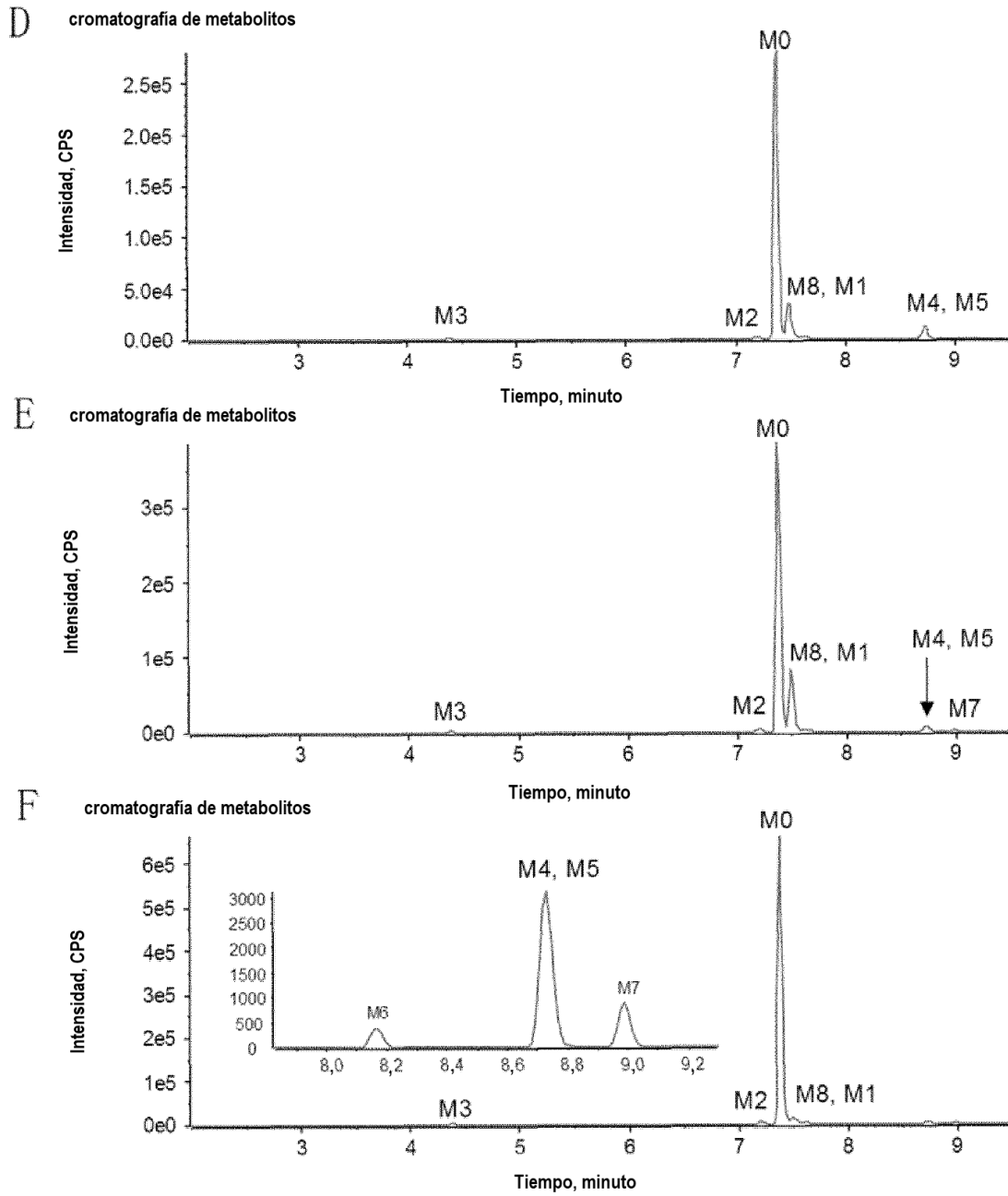


FIG.2

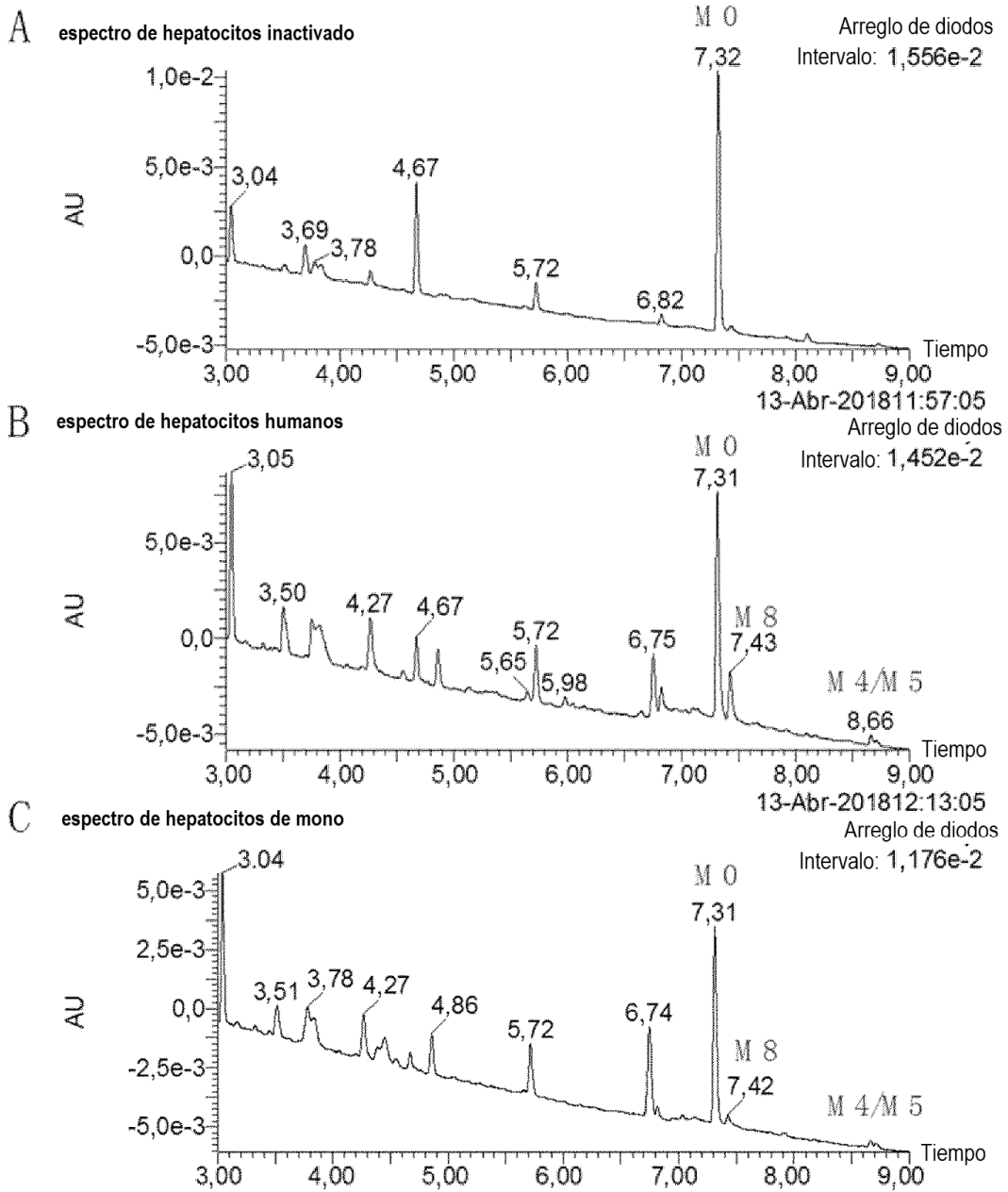


FIG.3

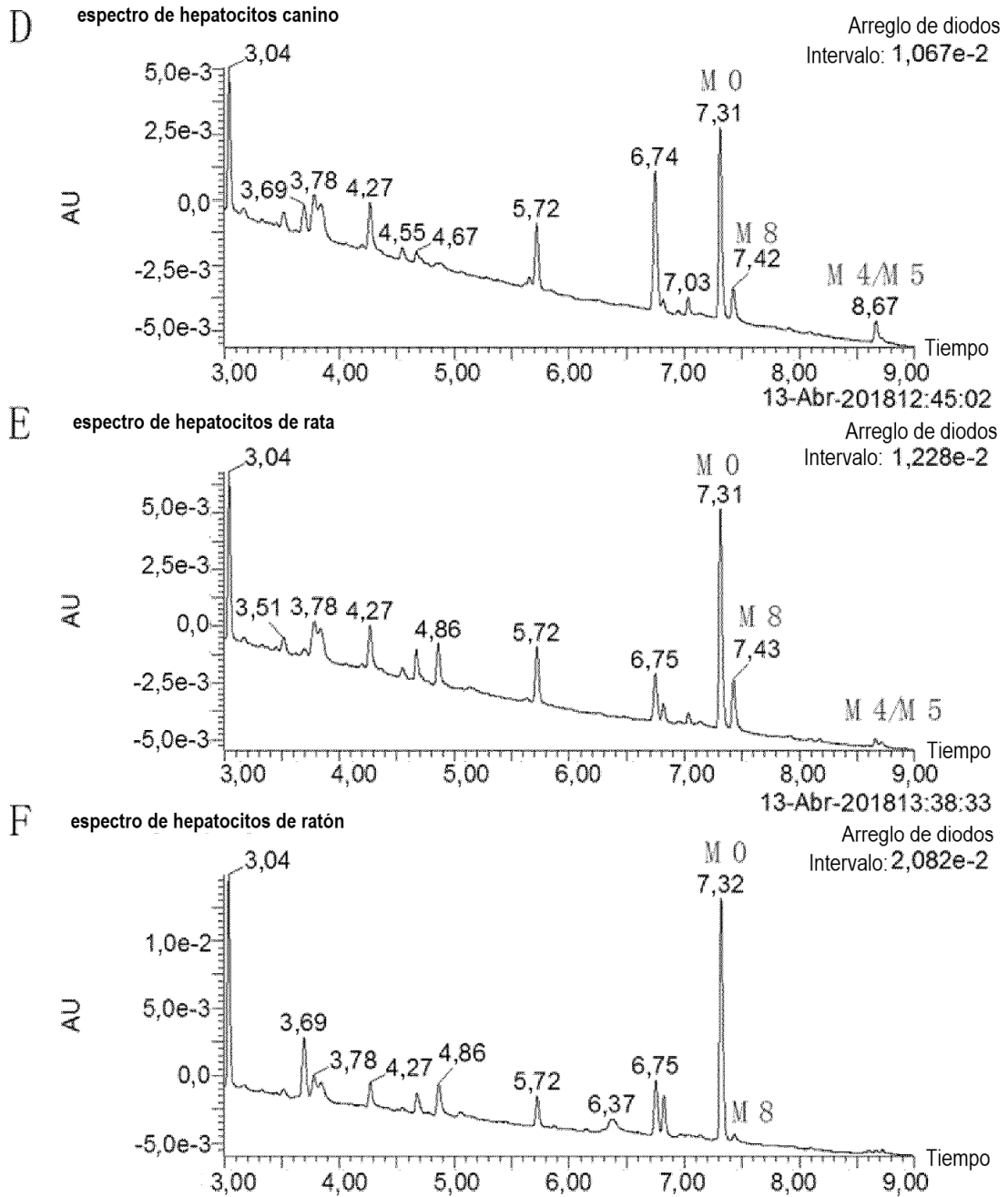


FIG.4