

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 090**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2010** **E 10721904 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2013** **EP 2435443**

54 Título: **Inhibidores a base de aminopirazol triazolotiadiazol de la proteína cinasa c-met**

30 Prioridad:

28.05.2009 US 181786 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.12.2013

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)
130 Waverly Street
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**LAUFFER, DAVID;
LI, PAN y
MCGINTY, KIRA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 433 090 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

Inhibidores a base de aminopirazol triazolotiadiazol de la proteína cinasa c-met

5 Área técnica de la invención

La presente invención se refiere a los inhibidores selectivos de c-Met. La invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que contienen un inhibidor de c-Met y compuestos o composiciones para utilizar en métodos de uso de las composiciones para el tratamiento de diversos trastornos proliferativos.

10

Antecedentes de la invención

El factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), también conocido como factor de dispersión, es un factor de crecimiento multifuncional que aumenta la transformación y el desarrollo del tumor induciendo mitogénesis y motilidad celular. Además, HGF promueve la metástasis al estimular la motilidad celular y la invasión a través de diferentes vías de señalización. Con el fin de producir efectos celulares, HGF se debe unir a su receptor, c-Met, un receptor tirosina cinasa. c-Met, una proteína heterodímera ampliamente expresada que consta de una subunidad α de 50 kilodalton (kDa) y una subunidad alfa de 145 kDa (Maggiora et al., J. Cell Physiol., 173:183-186, 1997), se sobreexpresa en un porcentaje significativo de los cánceres humanos y se amplifica durante la transición entre los tumores primarios y la metástasis. Los diferentes tipos de cáncer en los que está implicada la sobreexpresión de c-Met incluyen, pero no exclusivamente, adenocarcinoma gástrico, cáncer renal, carcinoma pulmonar microcítico, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer cerebral, cáncer de hígado, cáncer de páncreas y cáncer de mama. c-Met también está implicada en la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar. WO 2008/144767 da a conocer la modulación heterocíclica de la cinasa.

25

En consecuencia, hay una gran necesidad de desarrollar compuestos útiles como inhibidores del receptor proteína cinasa c-Met. En particular, los compuestos preferidos deben tener gran afinidad por el receptor c-Met y mostrar actividad funcional como antagonistas, mostrando simultáneamente poca afinidad por otros receptores cinasa o por dianas que se sabe que están asociadas a efectos adversos.

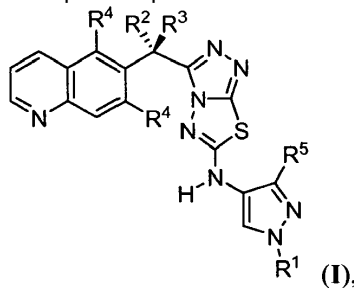
30

Resumen de la invención

Se encontró que las 3-(quinolin-6-il)metil-N-(1H-pirrol-3-il)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazol-6-aminas son eficaces en la inhibición de c-Met.

35

En consecuencia, la invención describe un compuesto que tiene la fórmula:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde cada R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ es el definido en este documento.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de fórmula I y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, la invención proporciona compuestos o composiciones para usar en métodos de tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad, una afección o un trastorno proliferativos en un paciente, que incluyen el paso de administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o de una composición farmacéutica de éste.

45

Descripción detallada de la invención

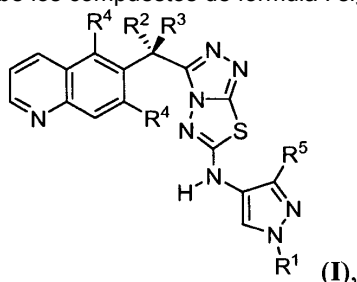
Definiciones y terminología general

Según se usa en este documento, se aplicarán las definiciones siguientes a menos que se indique lo contrario. Para los propósitos de esta invención, los elementos químicos se identifican de conformidad con la tabla periódica de los elementos, versión CAS, y el Handbook of Chemistry and Physics, 75ª Ed. 1994. Además, los principios generales de química orgánica se describen en "Organic Chemistry," Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry," 5ª Ed., Smith, M.B. y March, J., eds. John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyos contenidos completos se incorporan en este documento por referencia.

55

Descripción del compuesto de la invención

En un primer aspecto, la invención describe los compuestos de fórmula I siguientes:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde

R¹ es C₁₋₃ alifático;

R² es hidrógeno, fluoro o metilo;

R³ es hidrógeno, fluoro o metilo;

cada R⁴ es independientemente, hidrógeno o fluoro; y

R⁵ es hidrógeno, cloro, ciclopropilo o C₁₋₄ alifático, opcionalmente sustituido con 1 a 3 átomos de flúor.

En una realización R² es metilo y R³ es hidrógeno. En otra realización, R² es hidrógeno y R³ es metilo.

En otra realización, cada uno de R² y R³ es fluoro.

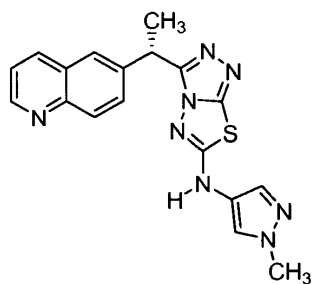
En otra realización de los compuestos de la invención, R⁴ es hidrógeno.

En otra realización de los compuestos de la invención, R¹ es metilo y R⁵ es hidrógeno.

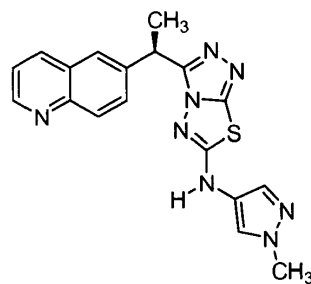
En otra realización, R¹ es metilo, cada uno de R² y R³ es flúor, y cada uno de R⁴ y R⁵ es hidrógeno.

En otra realización, el compuesto es una sal de clorhidrato.

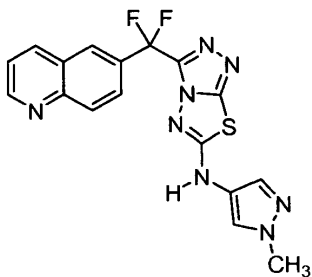
Los compuestos de fórmula I incluyen los siguientes:



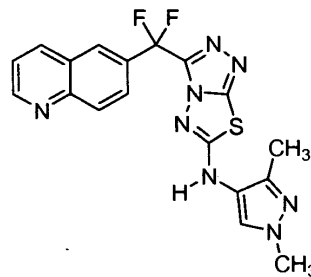
1



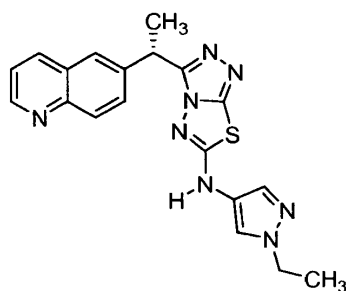
2



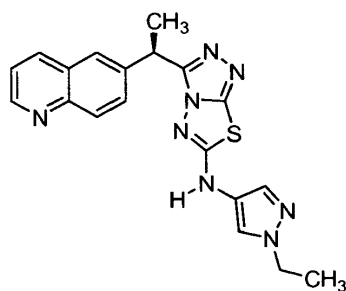
3



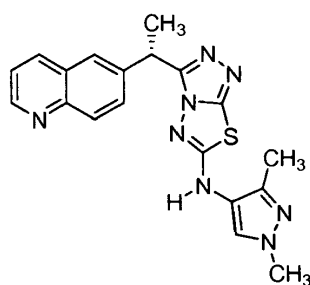
4



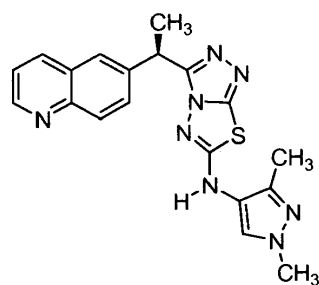
5



6



7



8

5 En otro aspecto, la invención describe una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición incluye un antineoplásico o antiproliferativo adicional, un antiinflamatorio, un fármaco para el tratamiento de la aterosclerosis o un fármaco para el tratamiento de la fibrosis pulmonar.

10 En otro aspecto, la invención describe compuestos o composiciones para usar en un método de tratamiento o disminución de la gravedad de un trastorno proliferativo en un paciente, que comprende administrar un compuesto de fórmula I en una cantidad suficiente para tratar, o disminuir la gravedad de, un trastorno proliferativo en dicho paciente. En una realización, el trastorno proliferativo es cáncer metastásico. En otra realización, el trastorno proliferativo es un glioblastoma; un carcinoma hepatocelular, un carcinoma gástrico; o cáncer de colon, mama, próstata, cerebro, hígado, páncreas o pulmón.

En otra realización, el trastorno proliferativo es cáncer metastásico.

Composiciones, formulaciones y administración de compuestos de la invención

20 En otro aspecto, la invención proporciona una composición que contiene un compuesto de fórmula (I) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la cantidad de compuesto en una composición de esta invención es tal que es eficaz para inhibir de manera mensurable c-Met en una muestra biológica o en un paciente. Preferentemente la composición de esta invención se formula para la administración a un paciente que necesita dicha composición. Muy preferentemente, la composición de esta invención se formula para la administración oral a un paciente.

El término "paciente" según se usa en este documento, significa un animal, preferentemente un mamífero, y muy preferentemente un humano.

30 Se apreciará también que los compuestos de fórmula I pueden existir en forma libre para el tratamiento, o cuando proceda, como uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables. Según la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero no exclusivamente, profármacos, sales, ésteres, sales de dichos ésteres o cualquier otro aducto o derivado, farmacéuticamente aceptables, que una vez administrado a un paciente que lo necesita sea capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de fórmula I como los descritos en este documento, o un metabolito o residuo de éstos.

Según se usa en este documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que son, a criterio médico, adecuadas para usar en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica ni similares indebidas.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en el área. Por ejemplo, S. M. Berge et al., describen

sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66:1-19, 1977, que se incorpora en este documento por referencia. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I incluyen las derivadas de bases y ácidos orgánicos e inorgánicos adecuados. Son ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, no tóxicas las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o mediante otros métodos utilizados en el área como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencensulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodohidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato, y similares. Las sales derivadas de bases adecuadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y $N^+(C_{1-4} \text{ alquil})_4$.

Como se describió antes, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención contienen además un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, el cual, en este documento, incluye cualquier y todos los solventes, diluyentes, u otros vehículos líquidos, auxiliares de dispersión o suspensión, tensioactivos, isotónicos, espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y análogos, según se adapte a la forma de dosificación particular deseada. En Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York, cuyos contenidos se incorporan en este documento por referencia, se dan a conocer varios excipientes utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Excepto en la medida en que cualquier medio portador convencional sea incompatible con un compuesto de fórmula I, por ejemplo por producir algún efecto biológico indeseable o de lo contrario interaccionar de manera nociva con otro(s) componente(s) de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso está contemplado como comprendido por el alcance de esta invención.

Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no exclusivamente, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, como seroalbúmina humana, sustancias amortiguadoras como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, como sulfato de protamina, fosfato ácido disódico, fosfato ácido de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, grasa de la lana, azúcares como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones como almidón de maíz y almidón de papa; celulosa y sus derivados como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; también pueden estar presentes en la composición a criterio del formulador, excipientes como manteca de cacao y supositorios de cera; aceites como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo, aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; amortiguadores del pH como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones amortiguadoras de fosfato, así como otros lubricantes compatibles atóxicos como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, al igual que colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saborizantes y perfumes, conservantes y antioxidantes.

Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, mediante inhalación de aerosol, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. El término "parenteral" según se usa en este documento incluye la inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinoval, intraesternal, intratecal, intraocular, intrahepática, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión. Preferentemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa. Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Esas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas utilizando dispersantes o humectantes y suspendientes adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente atóxico aceptable para uso parenteral, como por ejemplo una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos, estériles, como solvente o medio de suspensión.

Con este fin, se puede utilizar cualquier aceite fijo blando incluidos los mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, como el ácido oleico y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de inyectables porque son aceites naturales farmacéuticamente aceptables, como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Esas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un alcohol de cadena

larga como diluyente o dispersante por ej. carboximetilcelulosa o dispersantes similares, que se usan comúnmente en la formulación de formas farmacéuticas aceptables incluidas las emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos comúnmente utilizados como Tweens, Spans y otros emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se utilizan corrientemente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras, farmacéuticamente aceptables, también se pueden utilizar con fines de formulación.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar oralmente en cualquier forma farmacéutica aceptable incluidas, pero no exclusivamente, cápsulas, comprimidos y suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores que se utilizan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. También se agregan habitualmente lubricantes como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsulas, los diluyente útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con emulsionantes y suspendentes. Si se desea, también se pueden agregar ciertos edulcorantes, saborizantes o colorantes.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar en forma de supositorios por vía rectal. Éstos se pueden preparar mezclando el principio activo con un excipiente no irritante adecuado, que sea sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y por consiguiente que se funda en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también se pueden administrar tópicamente, especialmente cuando la diana del tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles por aplicación tópica, como las enfermedades oculares, cutáneas o del tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de esas áreas o esos órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior se puede efectuar mediante una formulación en supositorio rectal (véase antes) o una formulación en enema adecuada. También se pueden usar tópicamente parches transdérmicos.

Para las aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular como una pomada adecuada que contenga el principio activo suspendido o disuelto en uno o más portadores. Los portadores para administración tópica de los compuestos de fórmula I incluyen, pero no exclusivamente, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, un compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular como una loción o crema adecuada que contenga los principios activos suspendidos o disueltos en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Entre los portadores adecuados se encuentran, pero no exclusivamente, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular, por ej., como suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica con el pH ajustado u otra solución acuosa, o preferentemente, como soluciones en solución salina estéril isotónica con el pH ajustado u otra solución acuosa, con o sin conservante como cloruro de benzalconio. Alternativamente, para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en una pomada como vaselina. Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también se pueden administrar mediante un aerosol nasal o por inhalación. Dichas composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en el área de la formulación farmacéutica y se pueden preparar como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros solubilizantes o dispersantes convencionales adecuados.

Muy preferentemente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se formulan para la administración oral.

Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen, pero no exclusivamente, emulsiones microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en el área como, por ejemplo, agua u otros solventes, solubilizantes y emulsionantes, como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, maní, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahydrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de sorbitán de ácidos grasos, y sus mezclas. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden contener adyuvantes como humectantes, emulsionantes y suspendentes, edulcorantes, saborizantes y perfumes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones estériles inyectables acuosas u oleosas se pueden formular de acuerdo con las técnicas conocidas usando dispersantes o humectantes adecuados y suspendentes. La preparación estéril inyectable también puede ser una solución, suspensión o emulsión estéril inyectable en un

diluyente o solvente atóxico para uso parenteral, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución de cloruro de sodio isotónica U.S.P. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como solventes o medios de suspensión. Para este propósito se puede utilizar cualquier aceite fijo blando incluidos los mono o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se usan ácidos grasos como el ácido oleico.

Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril o cualquier otro medio inyectable estéril antes de usarlas.

Para prolongar el efecto de un compuesto de fórmula I, a menudo es deseable retardar la absorción de este compuesto desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con baja solubilidad en agua. La velocidad de absorción de un compuesto de fórmula I depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, disolver o suspender un compuesto de fórmula I en un vehículo oleoso logra la absorción retardada de una forma del compuesto administrada por vía parenteral. Las formas inyectables de en depot (liberación lenta) se elaboran por formación de matrices de microencapsulación de un compuesto de fórmula I en polímeros biodegradables como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción entre compuesto y polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del compuesto. Ejemplos de otros polímeros biodegradables son poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables en depot por atrapamiento de un compuesto de fórmula I en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con los tejidos del cuerpo.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que se pueden preparar mezclando un compuesto de fórmula I con excipientes o portadores no-irritantes adecuados como manteca de cacao, polietilenglicol, o un supositorio de cera, que sean sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por lo tanto, se fundan en el recto o la cavidad vaginal y liberen el principio activo.

Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, pastillas, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el principio activo se mezcla con al menos uno de los siguientes: uno o más excipientes o portadores inertes como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o (a) rellenos o diluyentes como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes como por ejemplo carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia, (c) humectantes como glicerol, (d) desintegrantes como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (e) retardadores de la solución como parafina; (f) aceleradores de la absorción como compuestos de amonio cuaternario, (g) humectantes como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) absorbentes como caolín y bentonita y (i) lubricantes como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y sus mezclas. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las formas farmacéuticas también pueden contener amortiguadores del pH.

También se pueden emplear composiciones sólidas de tipo similar como relleno de cápsulas de gelatina blanda y dura, utilizando excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos conocidos en el área de la formulación farmacéutica. Dichas formas pueden contener opcionalmente opacificantes y también pueden tener una composición tal, que liberen sólo el principio o principios activos, o preferencialmente, en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden utilizar comprende sustancias poliméricas y ceras. Se pueden emplear composiciones sólidas de tipo similar como rellenos de cápsulas de gelatina blanda y dura, utilizando excipientes como lactosa o azúcares de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los principios activos también puede estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como los indicados antes. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos conocidos en el área de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas sólidas el principio activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas también pueden contener, como es la práctica habitual, sustancias adicionales diferentes de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de compresión y otros auxiliares de compresión como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las formas farmacéuticas también pueden contener amortiguadores del pH. Dichas formas pueden contener opcionalmente opacificantes y también pueden tener una composición tal, que liberen sólo el principio o principios activos, o preferencialmente, en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden utilizar comprenden sustancias poliméricas y ceras.

Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de un compuesto de fórmula I comprenden pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, aerosoles, inhalantes o parches. El principio activo se mezcla en condiciones asépticas con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o amortiguador del pH que sea necesario. También se contemplan la formulación oftálmica, las gotas para los oídos y las gotas oculares como comprendidas por el alcance de esta invención. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar una liberación controlada de un compuesto de fórmula I al organismo. Dicha forma farmacéutica se pueden preparar disolviendo o dispensando un compuesto de fórmula I en el medio apropiado. Se pueden utilizar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo de un compuesto de fórmula I a través de la piel. La velocidad se puede controlar o bien proporcionando una membrana que controle la velocidad o dispersando un compuesto de fórmula I en una matriz polimérica o un gel.

Los compuestos de fórmula I se formulan preferentemente en formas farmacéuticas unitarias para facilitar la administración y la uniformidad de dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria" según se usa en este documento se refiere a una unidad físicamente discreta de un fármaco apropiado para el paciente que se va a tratar. Se comprenderá, sin embargo, que el uso diario total de un compuesto de fórmula I y de las composiciones que contienen un compuesto de fórmula I será determinado por el médico tratante según su criterio profesional. El nivel de dosis eficaz específica para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una serie de factores como el trastorno en tratamiento y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el género y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; otros fármacos utilizados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico empleado y factores semejantes conocidos en el área médica.

La cantidad de un compuesto de fórmula I que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma farmacéutica monodosis variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Preferentemente, las composiciones se formularán para que se pueda administrar una dosis entre 0.01 y 100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que recibe esas composiciones. En un ejemplo, las composiciones se formulan para que la dosis de un compuesto de fórmula I sea entre 3 y 30 mg/kg de peso corporal/día. En otro ejemplo, las composiciones se formulan para que la dosis de un compuesto de fórmula I sea entre 5 y 60 mg/kg de peso corporal/día.

Dependiendo de la afección o enfermedad particular a ser tratada o prevenida, también pueden estar presentes en las composiciones de esta invención, medicamentos adicionales que normalmente se administran para tratar o prevenir esa afección. Según se usa en este documento, los medicamentos adicionales que normalmente se administran para tratar o prevenir una enfermedad o afección particular, son conocidos como "adecuados para la enfermedad o afección en tratamiento". Los ejemplos de medicamentos adicionales se proporcionan más adelante.

La cantidad de medicamento adicional presente en las composiciones de esta invención no será mayor que la cantidad que se administraría normalmente en una composición que contuviera ese medicamento como el único principio activo. Preferentemente, la cantidad de medicamento adicional variará entre alrededor de 50% y alrededor de 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que contenga ese medicamento como el único principio terapéuticamente activo.

Uso de los compuestos de fórmula I y composiciones que contienen compuestos de fórmula I

De acuerdo con una realización, la invención se refiere a compuestos o composiciones para usar en un método de inhibición de la actividad de la proteína cinasa c-Met en una muestra biológica, que comprende el paso de poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de fórmula I o con una composición que contenga dicho compuesto. La expresión "muestra biológica", según se usa en este documento, significa una muestra de fuera de un organismo vivo e incluye, pero no exclusivamente, cultivos celulares o sus extractos; material de biopsia obtenido de un mamífero o sus extractos; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas, u otros líquidos corporales o sus extractos. La inhibición de la actividad de la cinasa en una muestra biológica es útil para diversos propósitos conocido por los técnicos con experiencia en el área. Los ejemplos de dichos propósitos incluyen, pero no exclusivamente, almacenamiento de muestras biológicas y ensayos biológicos. En una realización, el método de inhibición de la actividad de la cinasa en una muestra biológica está limitado a métodos no terapéuticos.

El término "c-Met" es sinónimo de "c-MET," "cMet", "MET", "Met" u otras denominaciones conocidas por un experto en el área.

De acuerdo con otra realización, la invención se refiere a compuestos o composiciones para usar en un método de inhibición de la actividad de la cinasa c-Met en un paciente, que comprende el paso de administrar a dicho paciente un compuesto de fórmula I, o una composición que contenga dicho compuesto.

La expresión "enfermedad mediada por c-Met" o "afección mediada por c-Met", según se usa en este documento,

significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que se sabe que c-Met juega un papel. Las expresiones "enfermedad mediada por c-Met" o "afección mediada por c-Met" también significan esas enfermedades o afecciones que son aliviadas por el tratamiento con un inhibidor de c-Met. Dichas afecciones incluyen, pero no exclusivamente, cáncer renal, gástrico, de colon, cerebro, mama, próstata, hígado, páncreas o pulmón, glioblastoma, aterosclerosis o fibrosis pulmonar.

En un aspecto, la presente invención describe compuestos o composiciones para usar en un método para tratar un trastorno prolifera activo en un paciente que comprende el paso de administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o de una composición que contenga un compuesto de fórmula I.

De acuerdo con una realización, el trastorno proliferativo es cáncer, por ejemplo, renal, gástrico, de colon, cerebro, hígado, mama, próstata y pulmón o un glioblastoma.

En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos o composiciones para usar en un método de tratamiento o disminución de la gravedad de un carcinoma hepatocelular en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de fórmula I o una composición de éste.

En otra realización, el trastorno proliferativo es policitemia vera, trombocitemia esencial, mielofibrosis idiopática crónica, metaplasia mieloide con mielofibrosis, leucemia mieloide crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica, leucemia eosinofílica crónica, síndrome hipereosinofílico, mastocitos sistémica, CML atípica o leucemia mielomonocítica juvenil.

En otra realización, el trastorno proliferativo es aterosclerosis o fibrosis pulmonar.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos o composiciones para usar en un método de inhibición de metástasis tumoral en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de fórmula I o una composición de éste.

Dependiendo de la afección o enfermedad particular a ser tratada, también pueden estar presentes en las composiciones de esta invención medicamentos adicionales que se administran normalmente para tratar esa afección. Según se usa en este documento, los medicamentos adicionales que se administran normalmente para tratar un trastorno o afección particular son conocidos como "adecuados para el trastorno o la afección que se está tratando".

En una realización, los antineoplásicos u otros fármacos antiproliferativos se pueden combinar con un compuesto de fórmula I para tratar enfermedades proliferativas y cáncer. Los ejemplos de antineoplásicos conocidos incluyen, pero no exclusivamente, alquilantes como, por ejemplo, ciclofosfamida, lomustina, busulfán, procarbazona, ifosfamida, altretamina, melfalán, fosfato de estramustina, hexametilmelamina, mecloretamina, tiotepa, estreptozocina, clorambucilo, temozolomida, dacarbazina, semustina o carmustina; fármacos de platino, como, por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, ZD-0473 (AnorMED), espiroplatino, lobaplatino (Aeterna), carboxifalato platino, satraplatino (Johnson Matthey), tetraplatino BBR-3464, (Hoffmann-La Roche), ormiplatino, SM-11355 (Sumitomo), iroplatinato o AP-5280 (Access); antimetabolitos, como, por ejemplo, azacitidina, tomudex, gemcitabina, trimetrexato, capecitabina, desoxicoformicina, 5-fluorouracilo, fludarabina, floxuridina, pentostatina, 2-clorodesoxiadenosina, raltitrexed, 6-mercaptopurina, hidroxiaurea, 6-tioguanina, decitabina (SuperGen), citarabina, clofarabina (Bioenvision), 2-fluorodesoxiciditina, irofulveno (MGI Pharma), metotrexato, DMDC (Hoffmann-La Roche), idatrexato o etinilcitidina (Taiho); inhibidores de la topoisomerasa, como, por ejemplo, amsacrina, rubitecán (SuperGen), epirubicina, mesilato de exatecán (Daiichi), etopósido, quinamed (ChemGenex), tenipósido, mitoxantrona, gimitecán (Sigma-Tau), irinotecán (CPT-11), diflomotecán (Beaufour Ipsen), 7-etil-10-hidroxi-camptotecina, TAS-103 (Taiho), topotecán, elsamitrucina (Spectrum), dextrazoxanet (TopoTarget), J-107088 (Merck & Co), pixantrona (Novuspharma), BNP-1350 (BioNumerik), análogo de rebecamicina (Exelixis), CKD-602 (Chong Kun Dang), BBR-3576 (Novuspharma) o KW-2170 (Kyowa Hakko); antibióticos antitumorales, como, por ejemplo, dactinomicina (actinomicina D), amonafida, doxorubicina (adriamicina), azonafida, desoxirubicina, antrapirazol, valrubicina, oxantrazol, daunorubicina (daunomicina) losoxantrona, epirubicina, sulfato de bleomicina (blenoxan), terarrubicina, ácido bleomicínico, idarrubicina, bleomicina A, rubidazona, bleomicina B, plicamicina, mitomicina C, porfiomicina, MEN-10755 (Menarini), cianomorfolinodoxorubicina, GPX-100 (Gem Pharmaceuticals), o mitoxantrona (novantrona), antimetabolitos, como, por ejemplo, paclitaxel, SB 408075 (GlaxoSmithKline), docetaxel, E7010 (Abbott), colchicinas, PG-TXL (Cell Therapeutics), vinblastina, IDN 5109 (Bayer), vincristina A, 105972 (Abbott), vinorelbina, A 204197 (Abbott), vindesina, LU 223651 (BASF), dolastatina 10 (NCI), D 24851 (ASTAMedica), rizoxina (Fujisawa), ER-86526 (Eisai), mivobulina (Warner-Lambert), combretastatina A4 (BMS), cemadotina (BASF), isohomohalicondrina-B (PharmaMar), RPR 109881A (Aventis), ZD 6126 (AstraZeneca), TXD 258 (Aventis), PEG-paclitaxel (Enzon), epotilona B (Novartis), AZ10992 (Asahi), T 900607 (Tularik), IDN-5109 (Indena), T 138067 (Tularik), AVL B (Prescient NeuroPharma), criptoficina 52 (Eli Lilly), azaepotilona B (BMS), vinflunina (Fabre), BNP-7787 (BioNumerik), auristatina PE (hormona Teikoku), profármaco del CA-4 (OXIGENE), BMS 247550 (BMS), dolastatina-10 (NIH), BMS

184476 (BMS), CA-4 (OXIGENE), BMS 188797 (BMS) o taxoprexina (Protarga); inhibidores de la aromatasa, como, por ejemplo, aminoglutetimida, exemestano, letrozol, atamestano (BioMedicines), anastrozol, YM-511 (Yamanouchi) o formestano; inhibidores de la timidilato sintasa, como, por ejemplo, pemetrexed (Eli Lilly), nolatrexed (Eximias), ZD-9331 (BTG) o CoFactor™ (BioKeys); antagonistas del ADN, como, por ejemplo, trabectedina (PharmaMar), mafosfamida (Baxter International), glufosfamida (Baxter International), apazicuona (Spectrum Pharmaceuticals), albúmina + ³²P (Isotope Solutions), 06 bencilguanina (Paligent), timentacina (NewBiotics) o edotreotida (Novartis); inhibidores de la farnesiltransferasa, como, por ejemplo, arglabina (NuOncology Labs), tipifarnib (Johnson & Johnson), lonafarnib (Schering-Plough), alcohol perillíco (DOR BioPharma) o BAY-43-9006 (Bayer); bomba de inhibidores, como, por ejemplo, CBT-1 (CBA Pharma), triclorhidrato de zosuquidar (Eli Lilly), tariquidar (Xenova), dicitrato de biricodar (Vertex) o MS-209 (Schering AG); inhibidores de la histona acetiltransferasa, como, por ejemplo, tacedinalina (Pfizer), butirato de pivaloiloximetilo (Titan), SAHA (Aton Pharma), depsipéptido (Fujisawa) o MS-275 (Schering AG); inhibidores de la metaloproteínasa, como, por ejemplo, Neovastat (Aeterna Laboratories), CMT-3 (CollaGenex), marimastat (British Biotech) o BMS-275291 (Celltech); inhibidores de la ribonucleósido reductasa, como, por ejemplo, maltolato de galio (Titan), tezacitabina (Aventis), triapina (Vion) o didox (Molecules for Health); agonistas/antagonistas de TNF alfa, como, por ejemplo, virulizina (Lorus Therapeutics), revimid (Celgene), CDC-394 (Celgene), entanercept (Immunex Corp.), infliximab (Centocor, Inc.), o adalimumab (Abbott Laboratories); antagonistas del receptor de endotelina A, como, por ejemplo, atrasentán (Abbott) YM-598 (Yamanouchi) o ZD-4054 (AstraZeneca); agonistas del receptor del ácido retinoico, como, por ejemplo, fenretidina (Johnson & Johnson) alitretinoína (Ligand) o LGD-1550 (Ligand); inmunomoduladores, como, por ejemplo, terapia del interferón dexasoma (Anosys), oncófago (Antigenics), pentrix (Australian Cancer Technology), GMK (Progenies), ISF-154 (Tragen), vacuna contra el adenocarcinoma (Biomira), vacuna contra el cáncer (Intercell), CTP-37 (AVI BioPharma), norelina (Biostar), IRIX-2 (Immuno-Rx), BLP-25 (Biomira), PEP-005 (Peplin Biotech), MGv (Progenies), vacunas synchrovax (CTL Immuno), beta-aletina (Dovetail), vacuna contra el melanoma (CTL Immuno), tratamiento de la LLC (Vasogen) o vacuna p21 RAS (GemVax); fármacos hormonales y antihormonales, como, por ejemplo, estrógenos, prednisona, estrógenos conjugados, metilprednisolona, etinilestradiol, prednisolona, clortrianiseno, aminoglutetimida, idenestrol, leuprolida, caproato de hidroxiprogesterona, goserelina, medroxiprogesterona, leuporelina, testosterona, bicalutamida, propionato de testosterona, fluoximesterona, flutamida, metiltestosterona, octreotida, dietilestilbestrol, nilutamida, megestrol, mitotano, tamoxifeno, P-04 (Novogen), toremofin, 2-metoxiestradiol (EntreMed), dexametasona o arzoxifeno (Eli Lilly); fármacos fotodinámicos, como, por ejemplo, talaporfina (Light Sciences), Pd-bacteriofeoforbida (Yeda), Theralux (Theratechnologies), texafirina-lutecio (Pharmacyclics), gadolinio motexafina (Pharmacyclics) o hipericina; e inhibidores de la tirosina cinasa, como, por ejemplo, imatinib (Novartis), kahalide F (PharmaMar), leflunomida (Sugen/Pharmacia), CEP-701 (Cephalon), ZD1839 (AstraZeneca), CEP-751 (Cephalon), erlotinib (Oncogene Science), MLN518 (Millenium), canertinib (Pfizer), PKC412 (Novartis), escualamina (Genaera), fenoxodiol, SU5416 (Pharmacia), trastuzumab (Genentech), SU6668 (Pharmacia), C225 (ImClone), ZD4190 (AstraZeneca), rhu-Mab (Genentech), ZD644 (AstraZeneca), MDX-H210 (Medarex), vatalanib (Novartis), 2C4 (Genentech), PKI166 (Novartis), MDX-447 (Medarex), GW2016 (GlaxoSmithKline), ABX-EGF (Abgenix), EKB-509 (Wyeth), IMC-1C11 (ImClone) o EKB-569 (Wyeth).

En otra realización, el medicamento adicional no es metabolizado en más del 90% por el citocromo P₄₅₀ 3A4 (CYP3A4).

Esos medicamentos adicionales se pueden administrar por separado de una composición que contenga un compuesto de fórmula I, como parte de un régimen de dosificación múltiple. Alternativamente, esos medicamentos pueden ser parte de una forma farmacéutica monodosis, mezclados con un compuesto de fórmula I en una composición única. Si se administra como parte de un régimen de dosificación múltiple, los dos principios activos se pueden administrar simultáneamente, o secuencialmente dentro de un período de tiempo entre uno y otro normalmente de cinco horas.

La cantidad de ambos, un compuesto de fórmula I y el medicamento adicional (en esas composiciones que contienen un medicamento como el descrito antes) que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma farmacéutica monodosis variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Preferentemente, las composiciones de esta invención se deben formular de modo que se pueda administrar una dosis entre 0.01 y 100 mg/kg de peso corporal/día de un compuesto de fórmula I. En un ejemplo, las composiciones se formulan para que la dosis de un compuesto de fórmula I puede ser entre 3 y 30 mg/kg de peso corporal/día. En otro ejemplo, las composiciones se formulan para que la dosis de un compuesto de fórmula I puede ser entre 5 y 60 mg/kg de peso corporal/día.

En esas composiciones que contienen un medicamento adicional, ese medicamento adicional y un compuesto de fórmula I pueden actuar de forma sinérgica. Por consiguiente, la cantidad de medicamento adicional en dichas composiciones será menor que la necesaria en una monoterapia en la que se utilice sólo ese medicamento. En dichas composiciones se puede administrar una dosis entre 0.01 y 100 mg/kg de peso corporal/día del medicamento adicional.

La cantidad de medicamento adicional presente en las composiciones de esta invención no será mayor que la

cantidad que se administraría normalmente en una composición que contuviera ese medicamento como el único principio activo. Preferentemente, la cantidad de medicamento adicional variará entre alrededor de 50% y alrededor de 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que contenga ese medicamento como el único principio terapéuticamente activo.

Los compuestos de fórmula I, o sus composiciones farmacéuticas, también se pueden incorporar en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, stents y catéteres. Los stents vasculares, por ejemplo, han sido utilizados para solucionar el problema de reestenosis (re-estrechamiento de la pared de los vasos luego de una lesión). Sin embargo, los pacientes que usan stents u otros dispositivos implantables corren el riesgo de formación de coágulos o activación de las plaquetas. Estos efectos indeseados se pueden prevenir o mitigar con un recubrimiento previo del dispositivo con una composición farmacéuticamente aceptable que contenga un inhibidor de cinasas. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de los dispositivos implantables recubiertos se describen en las patentes de Estados Unidos 6,099,562; 5,886,026; y 5,304,121. Los recubrimientos son habitualmente materiales poliméricos biocompatibles como un polímero de hidrogel, polimetildisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, etileno acetato de vinilo, y sus mezclas. Los recubrimientos pueden opcionalmente recubrirse con capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o sus combinaciones, para impartirle a la composición características de liberación controlada. Los dispositivos implantables recubiertos con un compuesto de fórmula I son otra realización de la presente invención.

Preparación de los compuestos de fórmula I

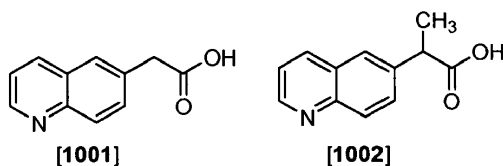
Para que la invención descrita en este documento se comprenda mejor, se dan a conocer los ejemplos siguientes. Se debe comprender que estos ejemplos tienen únicamente fines ilustrativos y que no deben ser interpretados como limitantes de esta invención en modo alguno.

Según se usan en este documento, otras abreviaturas, símbolos y convenciones son compatibles con los utilizados en la bibliografía científica contemporánea. Véase, por ejemplo, Janet S. Dodd, ed., The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors, 2ª Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997, incorporado en este documento en su totalidad por referencia. Las definiciones siguientes describen los términos y abreviaturas utilizadas en este documento:

Salmuera	una solución saturada de NaCl en agua
BSA	seroalbúmina bovina
DMSO	dimetilsulfóxido
ESMS	espectrometría de masas usando electronebulización
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	alcohol etílico
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
LCMS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
Me	metilo
MeOH	metanol
MTBE	metil <i>t</i> -butil éter
Ph	fenilo
RT	temperatura ambiente
TCA	ácido tricloroacético
THF	tetrahidrofurano
TFA	ácido trifluoroacético

Ejemplo 1. Compuestos de fórmula II

Los compuestos 1001 y 1002 se compraron a Okeanos Tech, Beijing, China (Catalog N° OK-J-05024 y OK-J-05025, respectivamente).



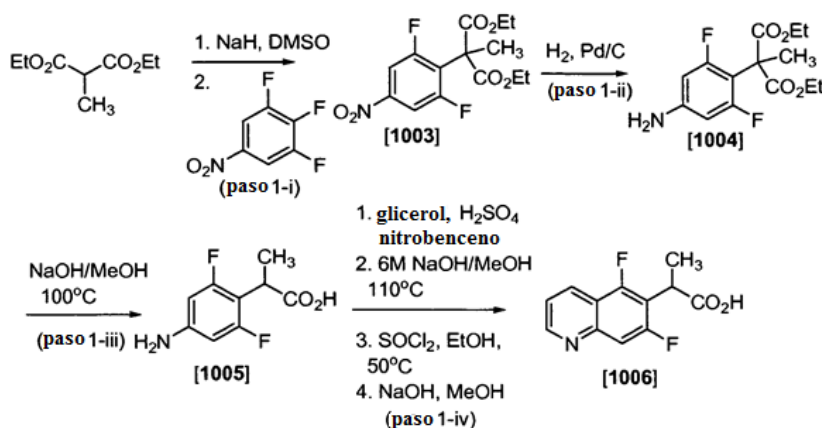
El compuesto 1004 se preparó como se muestra en el esquema 1. Concordantemente, como se muestra en el paso 1-i, a una suspensión de NaH (60% en aceite mineral, 8.47 g, 212 mmol) en DMSO a 0 °C (260 mL) se le agregó lentamente 2-metilmalonato de dietilo (compuesto 1005, 29.5 g, 169.4 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y se le agregó 3,4,5-trifluoronitrobenzoceno (25.0 g, 141.2 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta

temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción se vertió en solución ac. sat. de NH_4Cl y el precipitado se recogió por filtración. Después de lavar con agua 3 veces, el 2-(2,6-difluoro-4-nitrofenil)-2-metilmalonato de dietilo resultante (compuesto 1006 [$\text{R} = \text{CH}_3$], 44.5 g, 95% de rendimiento) se secó a presión reducida y se utilizó tal cual en la reacción siguiente.

Como se muestra en el paso 1-ii, a una solución de 2-(2,6-difluoro-4-nitrofenil)-2-metilmalonato de dietilo (44.5 g, 135 mmol) en MeOH se le agregó Pd/C (10%, 4.0 g) en atmósfera de nitrógeno. La atmósfera se reemplazó con H_2 y la mezcla se hidrogenó a 50 psi durante 3 días. La atmósfera se reemplazó con nitrógeno, la mezcla se filtró a través de tierras diatomeas y los volátiles se eliminaron a presión reducida. El 2-(4-amino-2,6-difluorofenil)-2-metilmalonato de dietilo (compuesto 1007 [$\text{R} = \text{CH}_3$], 40.5 g, 99% de rendimiento) se secó a presión reducida y se usó tal cual en la reacción siguiente.

Como se muestra en el paso 1-iii, a una solución de 2-(4-amino-2,6-difluorofenil)-2-metilmalonato de dietilo (40.0 g, 132.8 mmol) en metanol (200 mL) se le agregó NaOH 6 M (110.7 mL, 664.0 mmol). La mezcla se calentó a 100°C durante 4 horas, se enfrió hasta 0°C y se acidificó con HCl conc. hasta que se obtuvo un pH de 3. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua, y se secó en alto vacío a 50°C durante 20 horas para dar ácido 2-(4-amino-2,6-difluorofenil)propanoico (compuesto 1008 [$\text{R} = \text{CH}_3$], 22 g, 84% de rendimiento): ^1H NMR (300.0 MHz, DMSO) δ 12.25 (brs, 1H), 6.16 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.74 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H) y 1.28 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H) ppm.

Como se muestra en el paso 1-iv, se calentó suavemente una mezcla de ácido 2-(4-amino-2,6-difluorofenil)propanoico (19.0 g, 94.45 mmol), glicerol (35.83 g, 28.41 mL, 389.1 mmol), nitrobenzono (7.209 g, 6.028 mL, 58.56 mmol) y ácido sulfúrico concentrado (30.57 g, 16.61 mL, 311.7 mmol). Una vez que cesó la reacción vigorosa inicial, la mezcla se calentó a 170°C durante 16 horas. Después de enfriar, se eliminaron los volátiles a presión reducida, se disolvió el residuo en MeOH (150 mL), se agregaron 150 mL de NaOH 6 N, y la mezcla se calentó a 110°C durante 3 horas. Luego de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se acidificó con HCl concentrado hasta un pH de 3. El precipitado oscuro resultante se recogió por filtración y se lavó con agua. El precipitado se tomó en etanol y se agregó gota a gota cloruro de tionilo (11.24 g, 6.891 mL, 94.45 mmol). Una vez que se completó la adición, la mezcla se calentó a 50°C durante 20 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, los volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se disolvió en una mezcla de NaHCO_3 sat. y DCM. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron en MgSO_4 , se redujeron en volumen a presión reducida, y se sometieron a cromatografía en gel de sílice a presión media (0% de EtOAc/hexanos a 30% en 36 minutos) para dar 2-(5,7-difluoroquinolin-6-il)propanoato de metilo (14.0 g, 56% de rendimiento para dos pasos). El éster metílico (5.0 g) se saponificó tomándolo en metanol (30 mL), tratando la solución resultante con NaOH (16.58 mL de 6 M, 99.50 mmol), y agitando a temperatura ambiente durante 20 horas. Después de una acidificación cuidadosa con HCl conc. hasta un pH de 2, el precipitado resultante se recogió por filtración y se secó en alto vacío para dar ácido 2-(5,7-difluoroquinolin-6-il)propanoico, que se usó tal cual en las reacciones subsiguientes. El compuesto 1003 se puede preparar por el mismo procedimiento utilizado en la preparación del compuesto 1004 reemplazando 2-metilmalonato de dietilo con malonato de dietilo.

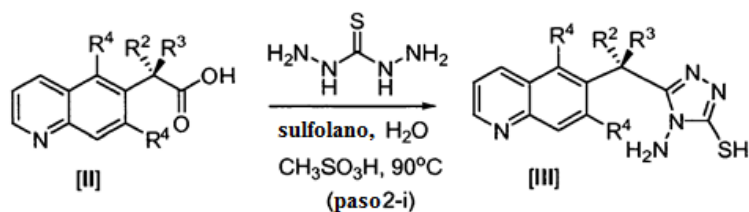


Esquema 1

Ejemplo 2. Preparación de compuesto de fórmula III

Los compuestos de fórmula III, en los que R^2 y R^3 son hidrógeno o metilo, se pueden preparar como se muestra en el esquema 2. Concordantemente, como se muestra en el paso 2-i del esquema 2, el ácido acético adecuadamente sustituido con quinolina de fórmula II (248.5 mmol, 1.0 equivalente) y 1,3-diaminotiourea (273.4 mmol, 1.1 equivalentes) se suspenden en una mezcla de tetrametileno sulfona (sulfolano, 38 mL) y agua (57 mL). Se agrega

ácido metanosulfónico (546.7 mmol, 2.2 equivalentes) a la mezcla, después de lo cual todos los sólidos se disuelven. La mezcla de reacción se calienta lentamente hasta 90 °C y la reacción se calienta a 90 °C durante 40 horas. La mezcla de reacción se enfría en un baño de hielo y se añade agua (75 mL), seguido de la adición cuidadosa de bicarbonato de sodio saturado (500 mL) hasta que se alcanza un pH de 8. El precipitado resultante se recoge por filtración al vacío, se lava con agua, bicarbonato de sodio saturado, agua y metil t-butil éter, respectivamente. El producto se seca en una estufa de vacío a 55 °C para obtener un compuesto de fórmula III.



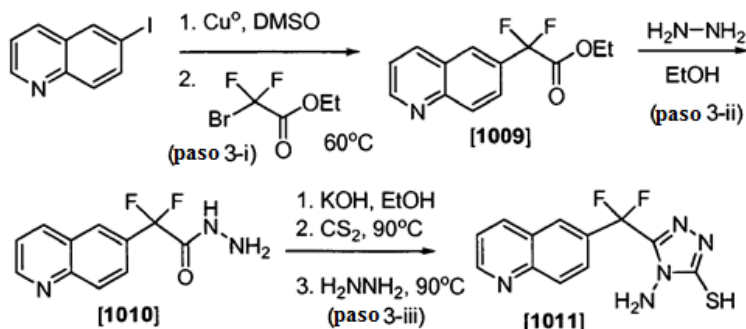
Esquema 2

Ejemplo 3. Preparación de 5-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-4-(iminotrifenilfosforano)-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (compuesto 1011)

Los compuestos de fórmula III, en los que cada uno de R² y R³ es fluoro y R⁴ es hidrógeno, se pueden preparar como se muestra en el esquema 3. Concordantemente, como se muestra en el paso 3-i, a una mezcla de 6-yodoquinolina (10.0 g, 39.21 mmol, comprada a Hangzhou Trylead Chemical Technology Co., Ltd., China) y cobre (nanopolvo) (9.964 g, 156.8 mmol) en DMSO (150 mL) se le agregó 2-bromo-2,2-difluoro-acetato de etilo (10.35 g, 50.97 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 6 horas, tiempo durante el cual la mezcla pasó de una suspensión de color cobre rojizo a una solución casi homogénea de color rojo oscuro. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (300 mL) y solución ac. sat. de NH₄Cl (450 mL). Después de agitar durante 30 minutos, la capa orgánica se separó, se lavó con agua, se lavó con salmuera, y se secó en sulfato de magnesio. La eliminación de los volátiles a presión reducida dio el producto crudo como un líquido rojo. La purificación por cromatografía en gel de sílice a presión media (DCM/acetato de etilo: 100% a 30% en 25 min.) dio 2,2-difluoro-2-(quinolin-6-il)acetato de etilo (compuesto 1009, 51% de rendimiento): ¹H NMR (300.0 MHz, CDCl₃) δ 9.04 - 9.03 (m, 1H), 8.29 - 8.21 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 7.93 (dd, J = 2.1, 8.9 Hz, 1H), 7.52 (q, J = 4.2 Hz, 1H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 2H) y 1.34 (t, J = 7.1 Hz, 3H) ppm.

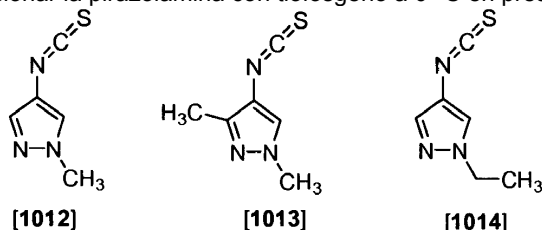
Como se muestra en el paso 3-ii del esquema 3, el compuesto 1009 (10.0 g, 39.80 mmol) se disolvió en etanol (100 mL), se le agregó hidrazina (7.65 g, 7.50 mL, 239 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después de verter la mezcla en solución de HCl 2 N, la mezcla acuosa se lavó 2 veces con DCM y el pH se ajustó a 8 mientras se hacía burbujear gas nitrógeno a través de la solución. La solución acuosa resultante se extrajo exhaustivamente con DCM (10x) y las capas orgánicas combinadas se secaron en MgSO₄, se filtraron y los volátiles se eliminaron a presión reducida para dar 2,2-difluoro-2-(quinolin-6-il)acetohidrazida como un sólido amarillo (compuesto 1010, 91% de rendimiento). Este compuesto se usó directamente sin purificación adicional.

Como se muestra en el paso 3-iii del esquema 3, el compuesto 1010 (3.55 g, 14.97 mmol) en EtOH (71 mL) se trató con hidróxido de potasio (924 mg, 16.5 mmol) y la mezcla de reacción se calentó suavemente para lograr homogeneidad. Se le agregó disulfuro de carbono (1.38 g, 1.09 mL, 18.2 mmol) y la mezcla se agitó a 90 °C durante 4 horas, tiempo durante el cual se formó el compuesto intermedio sal sódica del 5-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiol. A la solución a reflujo se le agregó hidrazina (4.80 g, 4.70 mL, 150 mmol), seguida de la adición de tamices moleculares 3A (3 g). Después de calentar a reflujo durante 2 horas, los tamices se separaron por filtración y se lavaron con EtOH. Las capas orgánicas combinadas se enfriaron hasta 0 °C en un baño de hielo y se trataron con HCl conc. en atmósfera de nitrógeno hasta alcanzar un pH de 6.5. El precipitado se eliminó por filtración y el filtrado se calentó a reflujo durante 4 horas, usando una trampa de Dean-Stark para recoger el exceso de agua. Los volátiles se eliminaron a presión reducida, el residuo se tomó en agua, y el pH se ajustó a 6.5. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con agua, y se secó para producir 5-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-4-amino-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (compuesto 1011, 61% de rendimiento): ¹H NMR (300.0 MHz, DMSO) δ 14.28 (s, 1 H), 9.03 - 9.02 (m, 1 H), 8.56 (d, J = 8.0 Hz, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 8.16 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.90 (dd, J = 1.9, 8.8 Hz, 1 H), 7.65 (q, J = 4.2 Hz, 1 H) y 5.69 (s, 2H) ppm.

**Esquema 3**

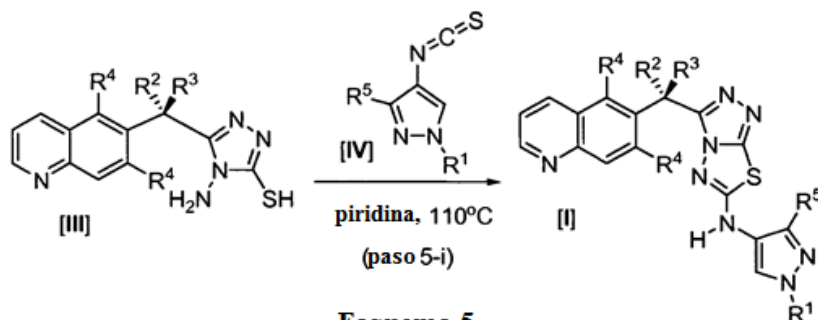
Ejemplo 4. Compuestos de fórmula IV

Se prepararon 4-isotiocianato-1-metil-1H-pirazol (compuesto 1012), 4-isotiocianato-1,3-dimetil-1H-pirazol (compuesto 1013) y 1-etil-4-isotiocianato-1H-pirazol (compuesto 1014) a partir de 1-metil-1H-pirazol-4-amina, 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-amina (de Matrix Chemical Co.) y 1-etil-1H-pirazol-4-amina (de Oakwood Products), respectivamente, haciendo reaccionar la pirazolamina con tiofósgeno a 0 °C en presencia de piridina.



Ejemplo 5. Preparación de los compuestos de fórmula I

Los compuestos de fórmula I se pueden preparar como se muestra en el esquema 5. Como se muestra en el paso 5-i del esquema 5, un compuesto de fórmula III (453.3 mmol, 1.00 equivalente) y un compuesto de fórmula IV juntos en piridina se calientan a 110 °C durante 15 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vierte en solución de HCl 1 N, el precipitado se recoge por filtración, se lava con agua y se purifica por cromatografía en gel de sílice a presión media. Cuando es deseable, se pueden separar las mezclas racémicas de los compuestos en sus respectivos enantiómeros por cromatografía de líquidos supercríticos usando una columna ChiralPak® AD-H (20 mm x 250 mm, 5 micras) o una columna ChiralCel® OJ-H (20 mm x 250 mm, 5 micras), eluyendo con una relación adecuada de MeOH (al 0.1% DEA)/CO₂ a una velocidad de flujo apropiada.

**Esquema 5**

Ejemplo 6. Preparación alternativa de compuestos de fórmula I - Preparación de 3-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazol-6-amina (Compuesto 3)

Los compuestos de fórmula I también se pueden preparar haciendo reaccionar 4-(iminotrifetilfosforano)-4H-1,2,4-triazol-3-íoles con isocianatos. Con concordancia, como se muestra en el paso 6-i del esquema 6, se cargó 6-yodoquinolina (750 g, 2.94 mol) en un balón de 22 L purgado con nitrógeno provisto de un agitador mecánico, una sonda de temperatura, un lector de temperatura, una línea de entrada de nitrógeno y un baño de enfriamiento. Se agregó THF (5.25 L) anhidro y la solución resultante se enfrió hasta -27 °C usando *i*-PrOH/baño de hielo seco. Se agregó *i*-PrMgCl·LiCl (2.45 L, 1.3 M en THF, 1.1 eq) en el transcurso de 1 hora 17 minutos a través de un embudo

de adición, manteniendo la temperatura entre -26 °C y -29 °C. La mezcla de reacción se agitó después durante 2.5 horas con la temperatura mantenida entre -20 °C y -29 °C. La suspensión marrón se enfrió a -53 °C en el transcurso de 25 minutos usando *i*-PrOH/baño de hielo seco y oxalato de dietilo (469 g, 0.44 L, 1.1 eq) durante 1 hora 15 minutos a través de un embudo de adición, manteniendo la temperatura entre -51 °C y -53 °C. Se permitió que la solución oscura resultante alcanzara la temperatura ambiente durante la noche (~18 horas) para producir una suspensión color mostaza. Se preparó una solución de cloruro de amonio (500 g, 9.35 mol, 3.18 eq) en agua (4.5 L) y se enfrió hasta 10 °C usando un baño de hielo. La mezcla de reacción se transfirió a la solución de cloruro de amonio en el transcurso de 37 minutos a través de una línea de transferencia aplicando un vacío leve en el balón de 22 L que contenía la solución de cloruro de amonio en agitación. Una vez que se completó la transferencia, se retiró el baño de hielo, se agregó EtOAc (3.75 L) y se inició la agitación. Después de aproximadamente 15 min, la agitación se detuvo y se permitió que las capas se separaran. La fase acuosa (pH = 8) se extrajo con EtOAc (3.75 L). Las dos capas orgánicas se combinaron y se lavaron con solución de NaCl (112 g en 2.5 L de agua). La fase orgánica se concentró al vacío a 25 °C para proporcionar un aceite (763 g), que se purificó por cromatografía en gel de sílice (7:1 a 1:1 hexano/EtOAc). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y concentraron al vacío para dar 2-oxo-2-(quinolin-6-il)acetato de etilo como un aceite marrón (compuesto 1015, 503 g, 74.5% de rendimiento): ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.40 (t, 3H), 4.51 (q, 2H), 7.71 (dd, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.24 (dd, 1H), 8.68 (dd, 1H), 8.77 (dd, 1H), 9.11 (dd, 1H).

Como se muestra en el paso 6-ii del esquema 6, el compuesto 1015 (282 g, 1.230 mol) y DCM (2.82 L) se combinaron en un balón de 12 L purgado con nitrógeno provisto de un agitador mecánico, una entrada de nitrógeno, una sonda de temperatura y un baño de agua a temperatura ambiente. A la solución resultante se le agregó trifluoruro de bis-(2-metoxietil)aminosulfuro (DeoxoFluor™, 615 g, 0.50 L, 2.26 eq) en el transcurso de 45 minutos a través de un embudo de adición. Se agregó en porciones EtOH absoluto (12.8 g, 15 mL, 0.21 eq) a través de una jeringa en el transcurso de 3 minutos y la reacción se dejó en agitación toda la noche a temperatura ambiente. Se tomaron muestras en proceso, se trataron y se analizaron por ¹H-NMR para controlar el progreso de la reacción. La relación molar típica entre material de partida y producto, luego de la primera adición de etanol, fue de aproximadamente 2:3. Concordantemente, se agregaron secuencialmente porciones adicionales de EtOH (12.3 g, 0.2 eq.) a través de una jeringa con períodos de 10 a 20 horas entre adiciones hasta que se observó que el contenido del material de partida era inferior al 10%. Se preparó una solución de detención mezclando bicarbonato de sodio (827 g, 8 equiv.) en agua (8.3 L) y enfriando a 13 °C en un baño de hielo. La mezcla de reacción se transfirió a una solución de detención de bicarbonato de sodio en el transcurso de 0.5 horas a través de una línea de transferencia aplicando vacío al balón de 22 L que contenía la solución de bicarbonato de sodio en agitación. Se observó el desprendimiento vigoroso de gas. La temperatura se mantuvo entre 10 °C y 13 °C durante la detención, luego de lo cual se retiró el baño de hielo y la mezcla se agitó durante 2 horas entre 12 °C y 15 °C. La capa de DCM se separó y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 1 L). Las capas de DCM se combinaron y se concentraron a 26 °C al vacío para dar 349 g de aceite crudo que se purificó por cromatografía en gel de sílice (7:1 a 4:1 hexano/EtOAc). Se combinaron y concentraron las fracciones que contenían el producto crudo para dar un aceite, que se tomó en 2 x 180 mL de EtOH abs, y se concentraron por evaporación rotaria para obtener 2,2-difluoro-2-(quinolin-6-il)acetato de etilo como un aceite (compuesto 1009, 164 g, 53% de rendimiento): ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.24 (t, 3H), 4.35 (q, 2H), 7.67 (dd, 1H), 7.91 (dd, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.60 (d, 1H), 9.05 (dd, 1H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -101.2.

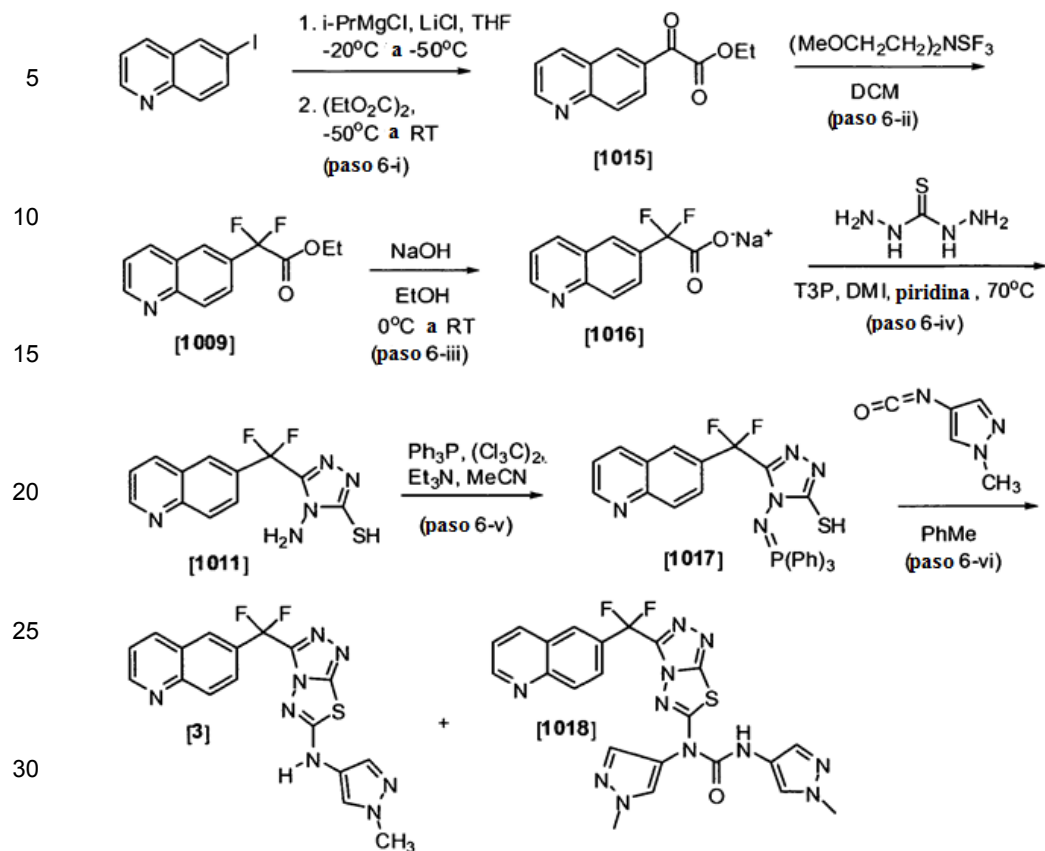
Como se muestra en el paso 6-iii del esquema 6, a un balón de 1 L provisto de una barra de agitación y una termocupla se le agregó compuesto 1009 (164 g, 633.9 mmol) y EtOH (398 mL). La solución amarilla se enfrió hasta 0 °C usando un baño de hielo/agua. Se agregó lentamente hidróxido de sodio (570.5 mL de solución acuosa 2 M, 1.141 mol) en el transcurso de 1 hora a la mezcla de reacción, mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 20 °C. Se retiró el baño de hielo/agua y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el sólido amarillo se secó en una estufa de vacío (50 °C, 20-25 mm Hg, barrido de N₂) para dar 2,2-difluoro-2-(quinolin-6-il)acetato de sodio (compuesto 1016, 156.0 g, 99% de rendimiento): ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.50-7.55 (dd, 1H), 7.90-7.85 (dd, 1H), 8.10-8.15 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.40 - 8.45 (d, 1H), 8.95-8.90 (dd, 1H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -98.15.

Como se muestra en el paso 6-iv del esquema 6, a un balón de 3 L provisto de una manta de calefacción, un condensador de reflujo, una termocupla, un agitador mecánico y purgado con N₂ se le agregó compuesto 1016 (98.6 g, 326.4 mmol), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (1.607 L) y piridina (38.73 g, 39.60 mL, 489.6 mmol). Se agregó anhídrido del ácido propanofosfónico (T3P®) al 50% en 2-metil-tetrahydrofurano (415.4 g, 652.8 mmol) en una sola porción y se observó un proceso exotérmico de 15 a 20 °C. La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 1 hora, tiempo durante el cual se le agregó tiocarbhidrazina (53.03 g, 489.6 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se agitó por otras 3 horas y después se agregó una porción adicional de T3P al 50% en 2-MeTHF (207.7 g, 326.4 mmol), seguida de agitación a 70 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. En un matraz aparte, se enfrió una solución de bicarbonato de sodio (219.3 g, 2.611 mol) en agua (2.41 L) con un baño de hielo/agua. La mezcla de reacción se agregó lentamente a la solución de detención a través de una cánula en el transcurso de 45 minutos, tiempo durante el cual se observaron formación de espuma y precipitación del producto. La solución se agitó a 5 °C durante una hora más a pH = 7. Los sólidos resultantes se recogieron

mediante filtración por succión y la torta se lavó con agua (3.2 L) y MTBE (3.2 L). El sólido blanco se secó en una estufa de vacío (50 °C, 20-25 mm Hg) para dar 4-amino-5-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiol (compuesto 1011, 57 g, 58% de rendimiento): ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.70-5.65 (s, 2H), 7.50-7.55 (dd, 1 H), 7.90-7.85 (dd, 1 H), 8.10-8.15 (d, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 8.40-8.45 (d, 1 H), 8.95- 8.90 (dd, 1H), 14.3-14.25 (s, 1 H); ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -92.50.

Como se muestra en el paso 6-v del esquema 6, se combinaron trifenilfosfina (17.66 g, 67.35 mmol), 1,1,1,2,2,2-hexafluoroetano (15.94 g, 67.35 mmol), compuesto 1011 (13.37 g, 44.90 mmol) en un balón de 500 mL provisto de un agitador mecánico y una termocupla, en atmósfera de nitrógeno. Se le agregó acetonitrilo anhidro (461.0 mL) seguido de la adición de Et₃N (14.09 g, 19.41 mL, 139.2 mmol) a la mezcla en agitación, mientras se mantenía la temperatura entre 21.4 y 25.1 °C. La mezcla de reacción se convirtió en una solución clara y luego se convirtió en una suspensión una vez que se formó el producto (en unos 2 minutos). Se agregó agua (808.9 mg, 808.9 µL, 44.90 mmol) seguida de MeOH (14.39 g, 18.19 mL, 449.0 mmol) y después la reacción se agitó durante 45 minutos más. El sólido se recogió por filtración y la torta se lavó con CH₃CN (132 mL). La torta se secó al vacío en una estufa a 45 °C con una purga de nitrógeno para producir 5-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-4-(iminotrifetilfosforano)-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiol (compuesto 1017, 25.57 g, 98.8% de rendimiento) como un sólido beige: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.51-7.42 (m, 6H), 7.70-7.56 (m, 12H), 8.11 (d, 1 H), 8.16 (m, 1H), 8.49 (dd, 1 H), 9.03 (dd, 1 H), 13.64 (br s, 1 H); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -91.77; ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-*d*₆) δ 19.71.

Como se muestra en el paso 6-vi del esquema 6, a un balón de 2 L, de 4 cuellos, provisto de un agitador aéreo, una termocupla, un condensador de reflujo y un borboteador de nitrógeno se le agregó ácido 1-metilpirazol-4-carboxílico (27.33 g, 216.7 mmol). Se agregaron tolueno (600 mL) y trietilamina (30.70 g, 42.29 mL, 303.4 mmol) a 20.1 °C sin que se observara aumento de temperatura. La suspensión blanca resultante se convirtió en una solución incolora después de calentar a 103 °C. Se agregó difenilfosforil azida (DPPA, 61.48 g, 48.14 mL 216.7 mmol) durante un período de 30 minutos, manteniendo la temperatura entre 103.1 y 107 °C. Se discontinuó el calentamiento y se dejó enfriar a temperatura ambiente. El 4-isocianato-1-metil-1*H*-pirazol resultante no se aisló y en cambio se le agregó compuesto 1017 (120 g, 216.7 mmol) en una porción a temperatura ambiente. El análisis por HPLC inmediatamente después de la adición mostró 51.2% de conversión del material de partida en compuesto 3. Partiendo de 216.7 mmol de ácido 1-metilpirazol-4-carboxílico, se preparó más 4-isocianato-1-metil-1*H*-pirazol como se indicó antes en un matraz aparte. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, esta mezcla de reacción se transfirió a la primera mezcla de reacción a través de una cánula. El análisis por HPLC indicó 100% de conversión después de la adición. Se agregó EtOAc (240 mL) a la mezcla de reacción y se formó un precipitado blanco. La reacción se agitó durante 30 minutos y el sólido se recogió mediante filtración por succión. La torta [(que contenía 1-(3-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]tiadiazol-6-il)-1,3-bis(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)urea (compuesto 1018) como subproducto] se lavó con EtOAc (600.0 mL). El filtrado se concentró al vacío por evaporación rotatoria a 35 °C para dar 272.4 g de un aceite marrón. El aceite se secó en alto vacío y se purificó por cromatografía en columna, usando una relación 8:1 de SiO₂ y petróleo crudo y eluyendo con un gradiente de 1% a 5% de EtOH en DCM para producir 3-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-*N*-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]tiadiazol-6-amina (compuesto de 3, 111 g), que después se purificó por cristalización. Concordantemente, se agregó una porción de 33.5 g de este material a un balón de 250 mL de 3 cuellos provisto de agitador mecánico y borboteador de nitrógeno. El sólido fue de un color habano anaranjado. Se agregó un total de 135 mL de CH₃CN para dar una suspensión espesa. Después de 2.5 horas, los sólidos se recogieron mediante filtración por succión después de 3 horas. La torta húmeda se lavó con CH₃CN (67 mL) para dar 13.9 g de sólido húmedo. Se realizó secado al vacío (43 °C, 20-25 en Hg, barrido de N₂) en el transcurso de 15.5 horas para dar 10.25 g de compuesto 3 puro (>99.9% de pureza por análisis de HPLC, < 0.1% de PPh₃O). El filtrado de MeCN se trató con igual cantidad de agua. Precipitó un sólido y la suspensión se agitó durante 2 horas. El sólido se recogió mediante filtración por succión. La torta húmeda se lavó con 35 mL de agua. La torta se secó (43 °C, 20-25 en Hg, barrido de N₂) para dar 9.5 g de un material sólido, que se trató con CH₃CN como se indicó antes para dar 4.78 g adicionales de compuesto 3 puro (total = 15.03 g, 57.7% de rendimiento total de compuesto 1017). El rendimiento se puede incrementar aún más por aminólisis del producto secundario de la urea (compuesto 1018) con NH₃/MeOH para recuperar más compuesto 3.



Esquema 6

Los datos analíticos de los compuestos 1 a 8 se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Caracterización física de los compuestos de fórmula I

Nº de comp.	ESMS (M+H)	^1H NMR (300 MHz, a menos que se indique lo contrario), los picos de NMR se informan como valores δ en ppm
1	377.17	(metanol- d_4) δ 8.81 (dd, $J = 1.7, 4.3$ Hz, 1 H), 8.37 (dd, $J = 0.9, 8.4$ Hz, 1 H), 8.04 - 7.98 (m, 2H), 7.79 (dd, $J = 2.1, 8.8$ Hz, 1 H), 7.55 (dd, $J = 1.9, 2.4$ Hz, 1 H), 7.52 (d, $J = 4.3$ Hz, 1 H), 7.42 (d, $J = 0.7$ Hz, 1H), 4.86 - 4.80 (m, 1 H), 3.79 (s, 3H) y 1.94 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H)
2	377.17	(metanol- d_4) δ 8.81 (dd, $J = 1.7, 4.3$ Hz, 1 H), 8.37 (dd, $J = 0.9, 8.4$ Hz, 1 H), 8.04 - 7.98 (m, 2H), 7.79 (dd, $J = 2.1, 8.8$ Hz, 1 H), 7.55 (dd, $J = 1.9, 2.4$ Hz, 1 H), 7.52 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 0.7$ Hz, 1H), 4.86 - 4.80 (m, 1H), 3.79 (s, 3H) y 1.94 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H)
3	399.06	(DMSO- d_6) δ 10.86 (s, 1 H), 9.18 (dd, $J = 1.5, 4.5$ Hz, 1 H), 8.83 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H), 8.61 (s, 1 H), 8.31 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H), 8.11 (dd, $J = 2.0, 8.9$ Hz, 1 H), 7.85 (dd, $J = 4.6, 8.3$ Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 0.4$ Hz, 1 H) y 3.79 (s, 3H)
4	413.21	(DMSO- d_6) δ 10.20 (br, 1H), 9.04 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 8.58 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.97 (dd, $J = 1.9, 8.9$ Hz, 1 H), 7.67 (q, $J = 4.2$ Hz, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 3.68 (s, 3H) y 2.07 (s, 3H)
5	391.24	(metanol- d_4) δ 9.25 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.32 (s, 1 H), 8.15 (dd, $J = 6.3, 7.6$ Hz, 1 H), 8.14 (s, 1H), 7.80 (s, 1 H), 7.51 (s, 1 H), 5.21 (q, $J = 7.2$ Hz, 1 H), 4.16 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.03 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H) y 1.42 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H)
6	391.24	(metanol- d_4) δ 9.25 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.32 (s, 1 H), 8.15 (dd, $J = 6.3, 7.6$ Hz, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.80 (s, 1H), 7.51 (s, 1 H), 5.21 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.16 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.03 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H) y 1.42 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H)

Nº de comp.	ESMS (M+H)	¹ H NMR (300 MHz, a menos que se indique lo contrario), los picos de NMR se informan como valores δ en ppm
7	391.20	(DMSO-d ₆) δ 9.91 (s, 1 H), 8.93 - 8.92 (m, 1 H), 8.47 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.80 - 7.75 (m, 1H), 7.62 - 7.58 (m, 2H), 4.78 (q, J = 7.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.03 (s, 3H) y 1.83 (d, J = 7.2 Hz, 3H) ppm
8	391.20	(DMSO-d ₆) δ 9.91 (s, 1 H), 8.93 - 8.92 (m, 1 H), 8.47 (d, J = 7.9 Hz, 1 H), 7.80 - 7.75 (m, 1 H), 7.62 - 7.58 (m, 2H), 4.78 (q, J = 7.5 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.03 (s, 3H) y 1.83 (d, J = 7.2 Hz, 3H) ppm

Ensayo biológico de compuestos de fórmula I

Ejemplo 3. Ensayo de inhibición de la cinasa c-Met

Se analizó la capacidad de los compuestos de la invención para inhibir la cinasa c-Met usando un ensayo radiométrico estándar. En resumen, en este ensayo de cinasa se examina la transferencia del ³²P-fosfato terminal en ³³P-ATP al sustrato poliE4Y. El ensayo se llevó a cabo en una placa de 96 pocillos hasta un volumen final de 100 μ L por pocillo con c-Met 0.5 nM, HEPES 100 mM (pH 7.5), MgCl₂ 10 mM, NaCl 25 mM, BSA al 0.01%, DTT 1 mM, 0.5 mg/mL de poliE4Y, y ATP 35 μ M. Concordantemente, los compuestos de la invención se disolvieron en DMSO para hacer soluciones madre iniciales 10 mM. Después se realizaron diluciones seriadas en DMSO para obtener las soluciones finales para el ensayo. Se agregó a cada pocillo una alícuota de 1.5 μ L de DMSO o inhibidor en DMSO, seguido de la adición de ³³P-ATP, y finalmente la adición de c-Met y poliE4Y (obtenido de Sigma). Después de 20 minutos, la reacción se detuvo con 50 μ L de ácido tricloroacético (TCA) al 30% que contenía ATP 4 mM. La mezcla de reacción se transfirió a placas de filtro GF de 0.66 mm (Corning) y se lavó tres veces con TCA al 5%. Tras la adición de 50 μ L de centelleante Ultimate Gold™ de alta eficiencia (Packard Bioscience), las muestras se contaron en un contador de luminiscencia y centelleo para microplacas TopCount NXT Packard (Packard BioScience). Se calcularon los valores de K_i usando macros de Microsoft Excel Solver para ajustar los datos al modelo cinético por inhibición competitiva de unión estrecha. Cada uno de los compuestos 1 a 8 tuvo un valor de K_i para la inhibición de c-Met de menos de 200 nM.

Ejemplo 4. Inhibición de la actividad de c-Met en las células de carcinoma gástrico Snu5

Los compuestos de fórmula I también se evaluaron respecto a su capacidad para inhibir la señal inducida por luciferasa en una línea celular Snu5 obtenida por ingeniería genética. Snu5 [obtenida de American Type Culture Collection (número de Catálogo CRL-5973)] es una línea de carcinoma gástrico humano que sobreexpresa c-Met, que es constitutivamente activa. La línea celular se transdujo con el retrovirus, pCLPCX, que contenía un constructo genético que consiste en elementos de respuesta del promotor 6xAP1 y un gen de luciferasa que tiene una secuencia C-terminal PEST (señal proteolítica de ornitina descarboxilasa de ratón, que reduce la vida media de la luciferasa). c-Met constitutivamente activa activa las vías celulares (principalmente MAP cinasa), resultando en la transcripción inducida por AP-1 de la luciferasa-PEST y la traducción en el producto final, cuya actividad es cuantificable como una lectura quimioluminiscente luego de agregar luciferina (Steady-Glo de Promega). La luminiscencia residual está fuertemente correlacionada con la inhibición de c-Met. Una línea celular estable se obtuvo mediante la selección de la nueva línea celular (Snu5-AP1-Luc-Pest) con puromicina. Las células se cultivaron en medios completos [medios de Iscove (Invitrogen) que contenían 10% de suero bovino fetal (FBS, Hyclone) y penicilina/gentamicina (Invitrogen)]. Los compuestos de la invención se disolvieron en DMSO para hacer soluciones madre iniciales 10 mM. Después se realizaron diluciones seriadas en DMSO y se transfirieron a medio completo para ser soluciones 10x. Se contaron las células Snu5-AP1-Luc-Pest y se diluyeron a 200 000 células/mL de solución. Se agregaron las células (90 μ L) a cada pocillo de una placa de 96 pocillos negra con fondo transparente (Costar). Después se agregaron 10 μ L de la solución de compuesto 10x a las células por triplicado. Las placas se incubaron en una estufa a 37 °C/5% de CO₂. Después de 6 horas, se agregaron 50 μ L del reactivo Steady-Glo (Promega) a cada pocillo y se colocó en un agitador de placas durante 5 minutos para asegurar que las células se lisaban completamente. La placa se leyó en un contador de luminiscencia y centelleo líquido 1450 Microbeta (Perkin-Elmer). Cada uno de los compuestos 1 a 8 tuvo un valor de CI₅₀ para la inhibición de la actividad de c-Met en células de carcinoma gástrico Snu5 de menos de 200 nM.

Ejemplo 5. Inhibición del crecimiento del tumor en un modelo de ratón

Se investigó la capacidad del compuesto 3 para inhibir el crecimiento del tumor en células de cáncer gástrico SNU-5 implantadas subcutáneamente en ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID). Se cultivaron células SNU-5 (CRL-5973, American Type Culture Collection, Manassas, VA) en medio modificado de ISCOVE de Dulbecco (IMDM) (Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Hyclone, Logan, UT), 100 unidades/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomycin (Invitrogen, Carlsbad, CA), y L-glutamina 2 mM. Las células se cultivaron menos de 4 pasajes antes de la implantación. Ratones hembra SCID (Fox Chase SCID, CB-17,

que pesaban 17 a 19 g obtenidas de Charles River Laboratories, Wilmington, MA) recibieron una inyección subcutánea (s.c.) de 5×10^6 células SNU-5 en la región dorsal axilar derecha el día 0. Los tratamientos se iniciaron el día 25 cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 358 mm³.

- 5 El compuesto 3, formulado en un vehículo que contenía 30% (p/v) de propilenglicol y 10% de Solutol (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) como una forma homogénea suspendida, se administró por vía oral (p.o.) una vez al día en dosis totales de 3, 10 y 30 mg/kg/día durante 14 días. Los volúmenes del tumor (calculados usando la fórmula elipsoidal, $(\text{longitud} \times \text{ancho}^2)/2$, se representan mediante las dimensiones más grande y más pequeña de ancho y largo del tumor, respectivamente) se registraron durante 2 semanas después de la iniciación del tratamiento. El estudio se finalizó 38 días después de la implantación del tumor. Los volúmenes tumorales promedio se presentan en la tabla 2. Los pesos de los tumores a la finalización del estudio se presentan en la tabla 3.

Tabla 2. Volúmenes de tumores de SNU-5*

	Día 25	Día 28	Día 31	Día 35	Día 38
Control con vehículo	357.6 ± 36.7	487.1 ± 45.8	578.4 ± 66.0	753.2 ± 77.9	937.1 ± 101.0
Compuesto 3, 30 mg/kg/día	359.5 ± 35.1	281.3 ± 28.7	256.5 ± 23.6	255.7 ± 21.1	273.4 ± 24.2
Compuesto 3, 10 mg/kg/día	358.0 ± 17.1	354.2 ± 21.7	381.8 ± 25.6	406.6 ± 23.4	453.9 ± 27.3
Compuesto 3, 3mg/kg/día	356.1 ± 24.5	432.6 ± 31.2	511.9 ± 36.3	587.8 ± 39.5	670.4 ± 46.2

*las mediciones del volumen tumoral en mm³ se informan como la media ± el error estándar

Tabla 3. Pesos de tumores de SNU-5 a la finalización de estudio

ID del animal	Vehículo, 10 mL/kg	Compuesto 3, 30 mg/kg/día	Compuesto 3, 10 mg/kg/día	Compuesto 3, 3 mg/kg/día
1	863	350	275	508
2	838	327	305	368
3	896	150	371	679
4	974	246	309	596
5	857	180	319	619
6	1607	173	476	505
7	760	260	358	525
8	629	420	469	485
9	896	250	279	605
10	1151	156	660	655
11			418	851
12			400	770
13			387	405
14			410	790
15			349	938
Media	947.1	251.2	385.7	619.9
DE	268.0	91.0	98.2	163.5
EE	84.7	28.8	25.4	42.2

Como se muestra en las tablas 2 y 3, el compuesto 3 demostró tener una actividad antitumoral significativa y dependiente de la dosis en los tres niveles de dosis probados. Una dosis de 30 mg/kg/día dio lugar a una regresión del tumor de -23.9% ($P < 0.001$) por análisis del volumen tumoral. Los tumores extraídos de los grupos de tratamiento de 3, 10 y 30 mg/kg/día de VRT-846198 fueron significativamente menores que los extraídos del grupo de control con vehículo, con reducciones en peso porcentuales de 34.5%, 59.3% y 73.5%, respectivamente (todos $P < 0.002$).

Ejemplo 6. Inhibición de la metástasis tumoral en modelo de ratón

Se investigó la capacidad del compuesto 3 para inhibir la metástasis de tumores implantados subcutáneamente en los pulmones de ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID). Concordantemente, se cultivaron células A549 (A549HGF-lm1115, transinfectadas con factor de crecimiento de hepatocitos, luciferasa y proteína fluorescente verde) en medio RPMI1640 (Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Hyclone, Logan, UT), 100 unidades/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomina (Invitrogen, Carlsbad, CA), y L-glutamina 2 mM durante menos de 4 pasajes antes de la implantación. Se formuló 3-(difluoro(quinolin-6-il)metil)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazol-6-amina (compuesto 3) en un vehículo que contenía 0.5% (p/v) de metilcelulosa(Sigma-Aldrich, St Louis, MO) y 0.1% (v/v) de Tween 80™ como una forma homogénea disuelta, que se preparó cada día y se administró a los ratones por sonda nasogástrica en un volumen de dosificación de 10 mL/kg.

Ratones hembra SCID recibieron por inyección subcutánea (s.c.) 5×10^6 células A549HGF en la región dorsal axilar derecha el día 0. Los tratamientos se iniciaron el mismo día por administración oral (p.o.) del compuesto 3 una vez al día (QD) en dosis diarias totales de 30 y 60 mg/kg/día durante 22 días. Se registraron las mediciones de tumores ectópicos 2 veces por semana durante 3 semanas luego de la iniciación del tratamiento. Se encontró que el compuesto 3 no producía ningún cambio significativo en el crecimiento primario de células tumorales A549 en el sitio de implantación para los ratones a los que se les administraron 30 o 60 mg/kg/día frente al crecimiento de células tumorales en ratones a los que se les administró solamente vehículo.

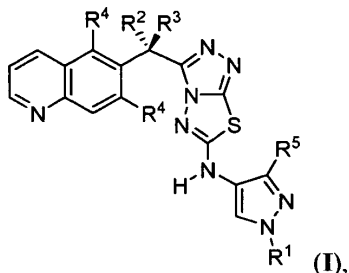
Para evaluar el potencial antimetastático del compuesto 3, a la finalización del estudio todos los tejidos pulmonares de los animales se extrajeron y lisaron mediante homogeneización para la cuantificación *ex vivo* por luminiscencia con luciferasa. La tabla 4 ilustra el contenido de células tumorales en el tejido pulmonar a la finalización del estudio y los datos indican que el compuesto 3 inhibe significativamente la formación de metástasis pulmonares en ratones tratados con compuesto 3 a una dosis de 60 mg/kg/día (recuento fluorescente promedio de 6672.3 ± 1986.1 SEM) en comparación con los controles con vehículo (recuento fluorescente promedio de 23531.5 ± 8278.2 SEM, $p < 0.02$).

Tabla 4. Luminiscencia de tejido pulmonar homogeneizado de ratones SCID tratados con compuesto 3 frente a animales de control tratados solamente con vehículo

ID del animal	Vehículo, 10 mL/kg	Compuesto 3, 30 mg/kg/día	Compuesto 3, 60 mg/kg/día
	(recuento)	(recuento)	(recuento)
1	6610	16300	4860
2	2980	5640	2470
3	1850	3890	2170
4	4300	5270	1480
5	21300	2270	2540
6	53200	2620	19300
7	9670	17200	21100
8	22600	21300	3800
9	26700	6430	16500
10	13300	4340	1440
11	112000	65400	2620
12	19300	2230	2920
13	12100		5540
Media	23531.5	12740.8	6672.3
Desviación estándar	29884.3	17828.3	7169.7
Error estándar	8278.2	5146.7	1986.1

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde

R¹ es C₁₋₃ alifático;

R² es hidrógeno, fluoro o metilo;

R³ es hidrógeno, fluoro o metilo;

cada R⁴ es independientemente, hidrógeno o fluoro; y

R⁵ es hidrógeno, cloro, ciclopropilo o C₁₋₄ alifático, opcionalmente sustituido con 1 a 3 átomos de flúor.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R² es metilo y R³ es hidrógeno.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que R¹ es metilo y R⁵ es hidrógeno.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R² es hidrógeno y R³ es metilo.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que R¹ es metilo y R⁵ es hidrógeno.

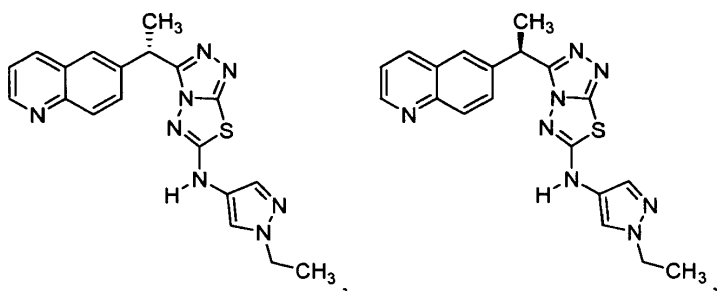
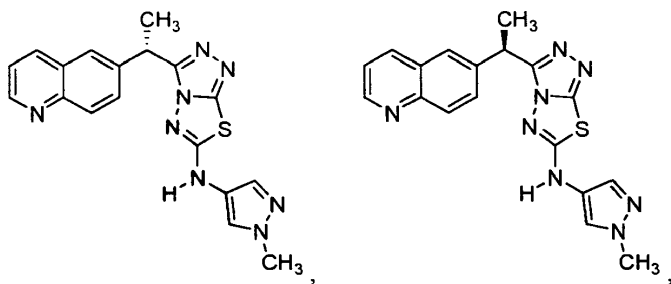
6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada una de R² y R³ es fluoro.

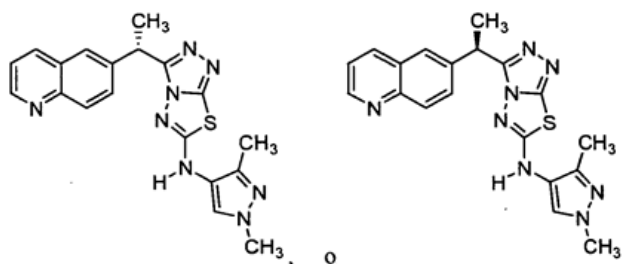
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en el que R¹ es metilo y R⁵ es hidrógeno.

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R⁴ es hidrógeno.

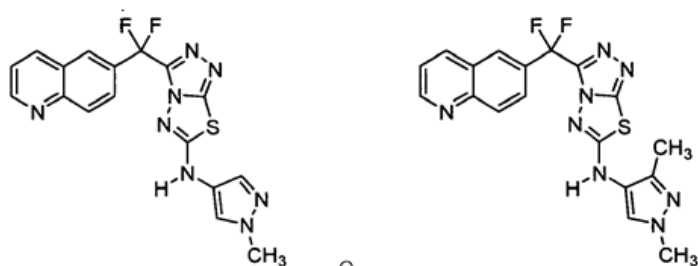
9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R⁴ es fluoro.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la estructura siguiente:





11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene la estructura siguiente:



12. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. La composición de acuerdo con la reivindicación 12, que contiene además un antineoplásico o antiproliferativo, un antiinflamatorio, un fármaco para tratar la aterosclerosis o un fármaco para tratar la fibrosis pulmonar.

14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12 o 13 que contiene dicho compuesto, para usar en el tratamiento o la disminución de la gravedad de un trastorno proliferativo en un paciente.

15. El compuesto o la composición, para usar de acuerdo con la reivindicación 14, donde dicho trastorno es cáncer metastásico.

16. El compuesto o la composición, para usar de acuerdo con la reivindicación 14, donde dicho trastorno es un glioblastoma; un carcinoma gástrico; o cáncer de colon, mama, próstata, cerebro, hígado, páncreas o pulmón.

17. El compuesto o la composición, para usar de acuerdo con la reivindicación 14, donde dicho trastorno es carcinoma hepatocelular.