

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 516 940**

51 Int. Cl.:

A61K 31/501 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2011** **E 11741372 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014** **EP 2598144**

54 Título: **6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3-(2-metil-2H-indazol-5-iltio)-[1,2,4] triazolo[4,3-b]piridazina como inhibidor de c-Met**

30 Prioridad:

30.07.2010 US 369335 P

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

31.10.2014

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

WU, ZHIPEI

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 516 940 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

6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3-(2-metil-2H-indazol-5-iltio)-[1,2,4] triazolo [4,3-b] piridazina como inhibidor de c-Met

La presente invención se enmarca en el campo de la química médica. La invención está relacionada con el tratamiento del cáncer. Más específicamente, la presente invención se refiere a un inhibidor de la vía de señalización del receptor c-Met útil para el tratamiento del cáncer.

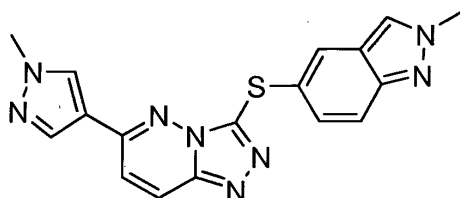
La expresión de c-Met tiene lugar en las células endoteliales, epiteliales y mesenquimales. La desregulación de la vía de señalización de HGF/c-Met se ha relacionado con la formación y progresión de tumores. La desregulación de receptores c-Met de células tumorales intensifica la proliferación de células tumorales, la invasión/metástasis, y la resistencia a la apoptosis. (Porter, y col., *Small molecule c-Met kinase inhibitors: a review of recent patents*, Expert Opinion on Therapeutic Patents, (2010), 20(2), 159-177)

Se han divulgado varios inhibidores del receptor c-Met (inhibidores de c-Met). Por ejemplo, las publicaciones internacionales del Tratado de Cooperación en Patentes (PCT) WO 2008051808 A2, WO 2008/051805 A3, y WO 2009/106577 A1 describen compuestos útiles para el tratamiento del cáncer.

Si bien se han divulgado compuestos útiles para el tratamiento de diversos cánceres que incluyen inhibidores de c-Met, algunos de estos compuestos no son suficientemente eficaces. Algunos compuestos carecen de eficacia sostenida, algunos tienen una farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) insatisfactoria, y algunos tienen perfiles metabólicos insatisfactorios. (Xiangdong, y col., Trends in Molecular Medicine (2010) 16(1), 41-42; véase también: Diamond S, y col., *Species-specific metabolism of SGX523 by aldehyde oxidase and the toxicological implications*, DrugMetab Dispos. 2010, 38(8):1277-85)

Existe, por tanto, la necesidad de compuestos innovadores que sean potentes y eficaces para el tratamiento del cáncer. En particular, existe la necesidad de compuestos que sean potentes. Adicionalmente, existe la necesidad de compuestos que tengan eficacia sostenida. Asimismo, existe la necesidad de compuestos que tengan un perfil PK/PD aceptable para el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona un compuesto innovador que exhibe alta potencia, eficacia preclínica sostenida, y un perfil PK/PD aceptable para el tratamiento de cánceres mediados por c-Met.

El compuesto de la invención es un compuesto de fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos diferentes.

La presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

La presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer seleccionado de entre cáncer colorrectal, de mama, de cabeza y cuello, de próstata, gástrico, pancreático, de hígado, renal, de pulmón, leucemia, melanomas, glioblastoma y sarcomas, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

La presente invención se refiere a un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer seleccionado de entre cáncer gástrico, glioblastoma, y cáncer pancreático, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

La presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer de mama o del cáncer colorrectal que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

5 La presente invención proporciona un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.

La presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer.

La presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer gástrico, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de mama o cáncer colorrectal.

10 La presente invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

La presente invención se refiere al uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer seleccionado de entre cáncer gástrico, cáncer pancreático y glioblastoma.

15 Tal y como se usa en el presente documento "Met", "c-Met", "c-Met" o "receptor c-Met" se refiere al receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y formas del mismo.

La frase "la disregulación de la vía de señalización de HGF/c-Met" significa niveles elevados o inapropiados de señalización a través de la vía de señalización de HGF/c-Met.

20 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto de la invención es una cantidad de dicho compuesto capaz de conseguir la inhibición de la actividad del receptor c-Met en una o más dosis para lograr el tratamiento del cáncer. Una cantidad eficaz puede ser determinada fácilmente por el diagnosticador o el médico encargado, como experto en la materia, considerando una serie de factores conocidos por el experto en la materia tal como, por ejemplo, altura, edad, salud general del paciente, cáncer específico o enfermedad o enfermedades presentes al mismo tiempo que estén siendo tratadas, grado de severidad, modo de administración, régimen de dosificación, uso de medicaciones concomitantes, etc.

25 Los términos "tratamiento" o "tratar" tal y como se usan en el presente documento significan detención del crecimiento tumoral, inhibición del crecimiento tumoral, prevención de la incidencia o recurrencia del crecimiento tumoral, y/o reducción de la gravedad o del efecto del cáncer.

30 La frase "eficacia sostenida" tal y como se usa en el presente documento se refiere a nivel sostenido del efecto farmacodinámico, por ejemplo la inhibición del crecimiento tumoral, o la concentración en el plasma del compuesto de la invención durante más de cuatro (4) horas. El beneficio de una eficacia sostenida incluye menor frecuencia y/o cantidad de dosificación.

35 La frase "propiedades PK/PD aceptables" tal y como se usa en el presente documento se refiere a un perfil de las propiedades de farmacocinética (PK) y farmacodinámica (PD) que permite que el compuesto sea administrado una vez al día (QD) o dos veces al día (BID) para el propósito previsto, es decir, como tratamiento del cáncer. Las propiedades PK/PD contempladas incluyen parámetros tales como la biodisponibilidad, la eliminación, y la estabilidad metabólica.

40 El compuesto de la invención puede existir también en forma de sal de adición de ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología habitual para prepararlas son conocidas por el experto en la materia. Véase, por ejemplo, P. Stahl, y col. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selections and Use* (VCHA/Wiley-VCH, 200); S. M. Berge, y col., "Pharmaceutical Salts" *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, Enero 1977, Las sales preferidas del compuesto de la invención incluyen la sal del ácido clorhídrico, la sal del ácido metanosulfónico y la sal bisulfato. El experto en la materia conoce los procedimientos para preparar las sales de ácido, particularmente, las sales de ácido preferidas de la presente invención.

45 Preferiblemente, la presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer de mama, colorrectal, de mama, de cabeza y cuello, de próstata, gástrico, pancreático, de hígado, renal, de pulmón, melanomas, sarcomas, leucemia o cáncer metastásico avanzado. Más preferiblemente, la presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste en cáncer de mama, colorrectal, gástrico, pancreático, y cáncer metastásico avanzado. También preferida es una realización de la presente invención que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer de mama o del cáncer colorrectal. En una realización aún más preferida, la presente invención proporciona un procedimiento para usar en el tratamiento del cáncer gástrico o del cáncer pancreático que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

En una realización preferida, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización particular la composición comprende además uno o más agentes terapéuticos diferentes.

- 5 El compuesto de la invención se puede preparar esencialmente tal y como se describe en los ejemplos que siguen a continuación.

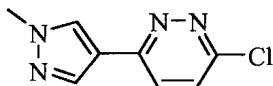
Abreviaturas

	DCM	Diclorometano
	DMF	N,N-dimetilformamida
10	EtOAc	Acetato de etilo
	THF	Tetrahidrofurano
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	TA	Temperatura ambiente
	ACN	Acetonitrilo
15	IPA	Alcohol isopropílico

Preparación 1

3-Cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridazina

20

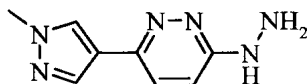


A un matraz de fondo redondo de 3000 ml que contiene una solución de 1-metil-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (76 g, 365,3 mmol), 3,6-dicloropiridazina (68 g, 456,4 mmol) en 1,4-dioxano (1200 ml) se añade una solución acuosa de K_2CO_3 (127 g, 919 mmol) en agua (480 ml). Después de añadir cloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) (7,5 g, 9,2 mmol), la mezcla se purga con N_2 durante 20 min y se agita a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se vierte en agua (300 ml) y diclorometano (2000 ml), y la capa acuosa se extrae con DCM (3 x 800 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentran a vacío. El producto bruto se purifica en una columna de gel de sílice eluyendo con DCM/metanol (40:1) para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido (56 g, 63,1 %). MS (m/z): 195,1 (M+H).

Preparación 2

3-Hidrazinil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridazina

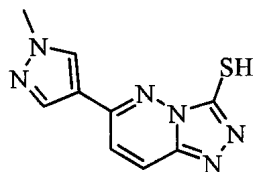
35



A un matraz de fondo redondo de 1000 ml que contiene una solución de monohidrato de hidrazina (280 ml, 4,89 mol) en etanol (300 ml) se añade 3-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridazina (60 g, 308,3 mmol) a 4 °C. La solución transparente resultante se calienta a reflujo durante 18 h, y se enfría después hasta 10 °C. El producto precipitado se recoge mediante filtración y se seca a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (53 g, 90,4 %), y se usa como tal.

Preparación 3

6-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-3-tiol



5

A una solución de 3-hidrazinil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridazina (53 g, 278,6 mmol) en etanol (550 ml) se añade una solución acuosa de KOH (17,2 g, 306,6 mmol) en agua (130 ml), seguida de CS₂ (36 ml, 596,7 mmol). La mezcla se agita a 60-67 °C durante 3 h en atmósfera de N₂ y se enfría hasta TA. Se eliminan los disolventes a vacío y el residuo se disuelve en NaOH acuoso 1 N (350 ml). Los insolubles se retiran por filtración y el filtrado se acidifica hasta pH 2~3 con HCl acuoso 1 N. El precipitado se recoge, se lava con agua, y se seca a vacío para proporcionar el compuesto del título (50 g, 77,3 %). MS (m/z): 233,0 (M+H).

10

Preparación 4

1H-indazol-5-amina

15

A un autoclave de 5000 ml equipado con una entrada de H₂, un termómetro, y un agitador mecánico se añade una solución de 5-nitro-1H-indazol (500 g, 3,06 mol) en tetrahidrofurano (THF, 3500 ml), seguida de paladio sobre carbono (al 10 %, 50 g, 141 mmol). La mezcla resultante se agita durante la noche a 25 °C en atmósfera de H₂ (5 kg de presión). Tras ser purgada con N₂, la mezcla se filtra, y el filtrado se concentra a vacío para dar el compuesto del título (420 g, 100 %) en forma de un sólido marrón. MS (m/z): 134,1 (M+H).

Preparación 5

20

5-yodo-1H-indazol

25

A una solución de HCl concentrado (1,3 l, 15,8 mol) en agua (3,5 l) se añade 1H-indazol-5-amina (500 g, 3,8 mol), seguida de una solución de NaNO₂ (285 g, 4,1 mol) en agua (1 l) en porciones a 0-5 °C. La suspensión roja resultante se añade lentamente a una solución de KI (3,1 kg, 18,7 mol) en agua (3 l) a 50 °C para controlar la generación de gas. La mezcla resultante se agita a 50 °C durante 1,5 h, se enfría hasta 10 °C y se basicifica hasta pH 8 con solución acuosa saturada de Na₂CO₃. Los sólidos se recogen mediante filtración y se disuelven de nuevo en EtOAc (20 l). La solución se lava con solución acuosa saturada de Na₂SO₃ (3 x 5 l), se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtra a través de una columna corta de gel de sílice. El filtrado se concentra a vacío para proporcionar el compuesto del título (680 g, 74,2 %). MS (m/z): 244,9 (M+H).

Preparación 6

30

5-yodo-2-metil-2H-indazol

35

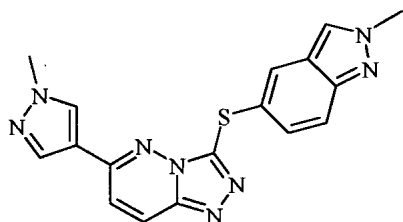
A una solución de 5-yodo-1H-indazol (500 g, 2,05 mol) en EtOAc (4 l) se añade tetrafluoroborato de trimetiloxonio (450 g, 3,04 mol). Tras agitar la suspensión blanca resultante a temperatura ambiente durante 2 h, esta se concentra a vacío. Se añade agua helada (1 l) al residuo, y se basicifica hasta pH 12 con solución acuosa de NaOH al 10 %. Los sólidos se recogen mediante filtración, y se disuelven de nuevo en DCM (5 l). Los insolubles se retiran por filtración y el filtrado se lava con solución acuosa de NaOH al 10 % (2 x 100 ml). La capa orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra a través de una columna corta de gel de sílice, y se concentra. Se añade metil terc-butil éter al residuo para dar una suspensión y el producto se recoge mediante filtración para dar el compuesto del título (360 g, 68,0%). MS (m/z): 259,0 (M+H).

Ejemplo 1

40

6-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-3-(2-metil-2H-indazol-5-iltio)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina

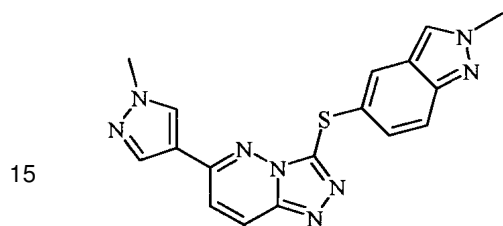
45



5 A una solución de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-3-tiol (2,3 g, 10,0 mmol) en DMF (20 ml) se añaden 5-yodo-2-metil-2H-indazol (2,6 g, 10,0 mmol), tris(dibencilidenacetona) dipaladio (0) (460 mg; 502,7 μ mol), 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (580 mg, 1,0 mmol), diisopropiletilamina (4 ml, 22,9 mmol). La mezcla se purga con N_2 y se agita a 100 °C durante 18 h. La DMF se elimina a vacío, y el residuo se purifica mediante cromatografía instantánea en columna (Combi-Flash, gel de sílice) eluyendo con DCM/metanol (20:1) para dar un producto bruto. El producto bruto se suspende en 20 ml de DCM para dar una suspensión, y el producto puro se recoge mediante filtración para dar el compuesto del título (1,9 g, 52,5 %) en forma de un sólido amarillo. MS (m/z): 363,1 (M+H).

Ejemplo 1a

10 6-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-3-(2-metil-2H-indazol-5-iltio)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina



20 A una solución de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-3-tiol (50 g, 268 mmol) en DMF (750 ml) se añaden 5-yodo-2-metil-2H-indazol (55,5 g, 215,1 mmol), ácido 2-piridincarboxílico (5,5 g, 44,7 mmoles), yoduro de cobre (I) (4 g, 21,0 mmoles), y carbonato de cesio (212,5 g, 652,2 moles). La mezcla está en atmósfera de N_2 y se agita a 100 °C durante 10 horas. La mezcla de reacción se enfría después hasta temperatura ambiente y se vierte en agua (2000 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 30 min, la mezcla se extrae con un disolvente mixto (2 l X 2, $CHCl_3/IPA = 3/1$). La capa orgánica combinada se lava después cuatro veces con una solución mixta (NH_4OH (ac) al 25%/salmuera = 1/4; 800 ml), $LiCl$ sat. (ac) (1L), salmuera sat. (1,5 l X 2), y se seca sobre Na_2SO_4 . La solución orgánica se concentra a presión reducida para dar un producto bruto sólido marrón. El producto se tritura con acetato de etilo (800 ml) a temperatura ambiente durante 3 horas y el producto puro se recoge mediante filtración para dar el compuesto del título (68 g, 87,2 %) en forma de un sólido blanco. MS (m/z): 363,0 (M+H).

Se ha observado que el compuesto de la presente invención tiene alta potencia y alta selectividad por el receptor c-Met, exhibe propiedades PK/PD aceptables, y demuestra una eficacia sostenida.

30 Los siguientes ensayos realizados esencialmente tal y como se describe en el presente documento demuestran que el compuesto de la presente invención inhibe potencialmente la fosforilación de c-Met en las células, inhibe potencialmente al c-Met *in vivo*, y demuestra una actividad antitumoral dependiente de la dosis en ciertos modelos de injerto heterólogo.

Ensayo *in vitro* de Fluorescencia Homogénea Resuelta en el Tiempo (HTRF) de cMet

35 Este ensayo se basa en la tecnología HTRF y se usa para detectar la fosforilación del péptido tirosina marcado con biotina por la enzima cMet. Una vez que se ha completado la reacción, se usa estreptavidina marcada con XL665 para reconocer la unidad de biotina y se usa un anticuerpo anti-fosfo-tirosina marcado con europio (Eu^{3+}) para reconocer la tirosina fosforilada. El procedimiento de detección se basa en la transferencia de energía entre el Eu^{3+} excitado y la estreptavidina marcada con XL665. El objetivo de este protocolo es calcular la capacidad de los compuestos de ensayo para inhibir la fosforilación del producto de esta reacción y calcular sus valores IC_{50} relativos.

40 Se puede preparar un compuesto de referencia, si se desea, en forma, de una solución madre 1 mM en DMSO al 100% y los compuestos de ensayo se preparan en forma de soluciones madre 10 mM en DMSO al 100%. El compuesto de referencia 1 mM y los compuestos de ensayo 10 mM se prediluyen hasta soluciones 8 μ M y 80 μ M en DMSO al 10% en una placa de dilución de 96 pocillos. Los compuestos se diluyen en serie (1:3) usando un dispositivo Tecan Freedom EVO 200 y se generan curvas de dilución de 10 puntos para cada uno de los compuestos ensayados. Se transfieren 10 μ l de los compuestos diluidos en serie a una placa de ensayo de 96 pocillos usando un dispositivo Temo (Tecan). Cada placa de ensayo contiene controles de la actividad máxima de la enzima y de la actividad mínima de la enzima. Los pocillos de control de la actividad máxima contienen 10 μ l de DMSO al 10% y los pocillos de control de la actividad mínima contienen 10 μ l de ácido etilen diamina tetraacético (EDTA) 500 mM disuelto en DMSO al 10%. Se añaden 20 μ l de solución sustrato [Bio-PolyGT (CisBio) (0,576 μ M) y ATP (65,14 μ M) preparada en tampón de dilución de enzima (EDB) Tris(hidroximetil) aminometano, tampón base Trizma®, pH 7,5, 50 mM; DL-ditiotreitol (DTT) 2 mM; TX-100 al 0,0005 %; $MgCl_2$ 10 mM; y EDTA 250 μ M)] a la placa de ensayo usando un dispositivo Multidrop (Thermo). Se añaden 10 μ l de mezcla de enzima [cMET (12 nM)

preparada en EDB] a la placa de ensayo usando un dispositivo Multidrop (Thermo) para iniciar la reacción. La placa de ensayo se agita durante 30 s y se incuba después a TA durante 90 min. Tras la incubación de 90 min, se añaden 40 µl de tampón de detección a la placa de ensayo [Estreptavidina-XL665 (SA-XL665) (Cisbio) (144 nM) y anticuerpo anti-fosfo-tirosina marcado con Eu^{3+} (EuK) (CisBio) (6 nM) preparado en 2.6*KF/EDTA ácido 4-(2-hidroxi-etil)piperazina-1-etanosulfónico; tampón ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazina-N'-(2-etanosulfónico) (HEPES), pH 7,0, 50 mM; BSA al 0,2 %; EDTA, 20 mM; KF 800 mM)] usando un dispositivo Multidrop (Thermo). La placa de ensayo se incuba a TA durante 60 min antes de leer las señales de fluorescencia a 620 nm la emisión y a 665 nm la excitación en un instrumento Victor3 (PerkinElmer Corporation). Las relaciones 665/620 se normalizan para cada placa y los valores porcentuales de inhibición se representan frente a la concentración de compuesto para calcular los valores IC_{50} relativos. El valor IC_{50} para el compuesto del ejemplo 1 es 0,010 µM con una desviación estándar de 0,00071 y un tamaño de muestra de 2. El valor IC_{50} para la forma sal mesilato del ejemplo 1 es 0,025 µM con una desviación estándar de 0,0082 y un tamaño de muestra de 2. Estos datos demuestran que el compuesto de la invención es un potente inhibidor de c-Met.

ELISA basado en células NCI-H460 de Met (pY1349) estimulado con HGF

Se cultivan células NCI-H460 (adquiridas en ATCC) en medio RPMI 1640 (Invitrogen) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 % y se disponen (antes de llegar al 70 % de confluencia) en placas de fondo plano de 96 pocillos a una densidad de 20.000 células por pocillo en un volumen de 80 µl. Las células se incuban después durante la noche en una incubadora de cultivos celulares (CO_2 al 5 %, 95 % de Humedad Relativa (RH) y 37 °C) y se dejan que se unan a la placa. A la mañana siguiente las células se lavan con 2 volúmenes de un Medio de Suero Reducido (RSM, Medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 0,5 %). Tras la eliminación del último lavado, se añade 80 µl de RSM a cada pocillo de las placas de células. Las placas de células se incuban durante 2,5 h en una incubadora de cultivos celulares, y se dosifican después con los compuestos. Los inhibidores de los compuestos se solubilizan en primer lugar a 10 mM en DMSO al 100% y se diluyen después a 100 µM con RSM en DMSO al 2 %. Posteriormente se preparan diluciones en serie (1:3) de los compuestos a lo largo de un intervalo de 100 µM a 0,005 µM. Las células se dosifican con la adición de 20 µl de la solución madre del compuesto para producir una concentración final de DMSO del 0,4 % y una dosis de concentración de compuesto final que varía entre 20 y 0,001 µM. Tras la dosificación con los compuestos, las placas de células se agitan suavemente para mezclarlas y después se dejan incubar durante 30 min en una incubadora de cultivos celulares. Una vez finalizada la dosificación, las células se estimulan con la adición de 20 µl por pocillo de factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) a una concentración final de 100 ng/ml en RSM (se estimulan todos los pocillos excepto los pocillos MIN, los pocillos MIN se dosifican con 20 µl de RSM). Tras 10 min de incubación en una incubadora de cultivos celulares, el líquido se retira de los pocillos de las placas con células, y las células se lisan mediante la adición de 50 µl de Tampón de Lisis 1 X enfriado con hielo de Meso Scale Discovery® (MSD, Gaithersburg, Maryland) (NaCl 150 mM, Tris 20 mM, pH 7,5, EDTA 1 mM, ácido etilenglicol tetraacético 1 mM, y TRITON® X-100 al 1 %) suplementado con inhibidores de Proteasa y Fosfatasa I y II (Sigma, St. Louis, MO). Después de la lisis a TA durante 30 min los lisados se transfieren a y se capturan sobre una placa PhosphoMet de 4 manchas y 96 pocillos MSD® Multi-Spot que se bloquea con BSA (a 30 mg/ml Bloque A en Tampón de Lavado Tris 1 X) y se lavan después una vez con Tampón de Lavado Tris. Después de 2 h de captura (a TA) los lisados se retiran de la placa MSD® y la placa se lava con Tampón de Lavado Tris 1 X. Tras la transferencia, se añaden 25 µl de anticuerpo Anti-Total Met Sulfo-Tag 5 nM (anticuerpo de detección, MSD® preparado en Tampón de Lavado Tris 1 X suplementado con BSA 10 mg/ml y Bloqueador D-R al 0,1 % (MSD®)) a los pocillos de la placa MSD®. Después de 1 h de captura (a TA) los pocillos de la placa MSD® se lavan con Tampón de Lavado Tris 1 X, y después se añaden 150 µl de Tampón de Lectura T (con tensioactivo, MSD®) 1 X. Inmediatamente después de la adición del Tampón de Lectura, las placas se analizan con un lector de placa Imager SECTOR 6000 MSD®. Se determinan los valores IC_{50} relativos usando unidades de actividad MSD mediante el cálculo del porcentaje de inhibición con respecto a los controles "MIN" y "MAX" sobre la placa y ajustando después los valores porcentuales de inhibición y los datos de respuesta a la dosis de diez puntos a una ecuación logística de cuatro parámetros. El compuesto del ejemplo 1 mostraba un valor IC_{50} relativo de 0,036 µM, $n=1$ (0,038 µM, $n=1$ para la forma sal mesilato) indicando que el compuesto del ejemplo 1 inhibe potencialmente la fosforilación de c-Met en las células *in vitro*.

Ensayo de inhibición diana in vivo (IVTI) de c-Met

Se cultivan células S114 (que sobreexpresan tanto HGF humano como c-Met humano) en medio de crecimiento (Medio Eagle Modificado de Dulbecco) suplementado con suero fetal bovino al 10 % y se expanden. Las células se recolectan y se lavan dos veces con solución salina tamponada con fosfato y se mezclan 2×10^6 células con un volumen igual de matriz BD Matrigel® (BD Bioscience, Franklin, NJ), y se inyectan subcutáneamente en el costado de ratones desnudos (desnudos atímicos, de Harlan, Indianapolis, IN). El día 8 después del implante, los compuestos (formulados en goma arábiga al 10 % o carboximetilcelulosa al 1 %/ lauril sulfato sódico al 0,5 % / antiespumante al 0,05 % en forma de suspensión) se administran a los animales por sonda oral a 50 mg/kg. Los animales se sacrifican a las 2 horas después de la dosis, y los tumores se recolectan y se almacenan congelados hasta que se necesiten.

Los tumores congelados se pulverizan usando un mortero. Los tejidos pulverizados se transfieren a un tubo que contiene perlas Lysing Matrix D (MP Biomedicals, Solon, OH) y 600 µl de tampón de lisis (tampón RIPA, que

contiene Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, NP-40 al 1 %, desoxicolato sódico al 0,5 %, SDS al 0,1 %, de Boston Bioproducts, Inhibidores de Fosfatasa I y II e Inhibidor de Proteasa (Sigma, St. Louis, MO)). Se usa un Disruptor Celular FastPrep® (MP Biomedicals, Inc.) para desmenuzar el tejido y lisar las células. Los lisados se hacen pasar a través de una aguja de calibre 20 y se transfieren a un tubo limpio. La concentración de proteína se determina mediante el método Bradford conocido por el experto en la materia.

Los lisados de tumor se cargan en placas ELISA phosphor-Met MSD® y se determina el nivel de fósforo-c-Met usando el mismo protocolo que el ELISA basado en células H460. El valor de inhibición *in vivo* ED₅₀ para las S114 para el compuesto del ejemplo 1 es 0,32 mg/kg con un intervalo de confianza del 95 % delimitado por 0,23 mg/kg y 0,41 mg/kg. El TEC₅₀ para el ejemplo 1 es 0,18 µM con un intervalo de confianza del 95 % delimitado por 0,13 µM y 0,23 µM. Estos resultados indican que el ejemplo 1 es un potente inhibidor de c-Met *in vivo*.

Modelos de tumor de injerto heterólogo

Se cultivan células de glioblastoma humano U87MG, células de cáncer gástrico humano MKN45, o células pancreáticas humanas KP4 y se implantan subcutáneamente en el costado trasero de ratones hembra de cepa CD-1 nu/nu que se han aclimatado durante una semana en la instalación de animales después de recibirlos del proveedor. Los ratones se distribuyen al azar en grupos de 10 ratones por grupo. El compuesto de ensayo se prepara en un vehículo apropiado y se administra por sonda oral cuando los tumores están formados (7-21 días después del implante, o cuando el volumen medio del tumor llega a ~ 100 mm³). La respuesta al tumor se determina mediante la medición del volumen del tumor efectuada dos veces por semana durante el curso del tratamiento. Las fluctuaciones del peso corporal se controlan como una medida general de toxicidad. El compuesto del ejemplo 1 se administra oralmente dos veces al día durante 28 días.

Para el análisis estadístico, los volúmenes tumorales de los sujetos individuales se transforman en log volumen y se analizan con un análisis de varianza con medidas repetidas de dos variables por tiempo y tratamiento usando los procedimientos MIXED en software SAS (versión 8.2). El modelo de correlación para las medidas repetidas es poder espacial. Los grupos tratados se comparan con el grupo control en el punto de tiempo final. El procedimiento MIXED se usa también separadamente para cada grupo de tratamiento para calcular la media ajustada y los errores estándar en cada punto de tiempo. Ambos análisis representan la autocorrelación en cada sujeto.

Tabla 1: Eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en injertos heterólogos de glioblastoma U87MG

Grupo de tratamiento	Volumen medio del tumor ± Error estándar (mm ³)	valor p el día 37
Vehículo	479 ± 175	-----
Ejemplo 1 a 2 mg/kg	271 ± 61	No significativo
Ejemplo 1 a 4 mg/kg	137 ± 29	< 0,001
Ejemplo 1 a 8 mg/kg	108 ± 16	< 0,001
Ejemplo 1 a 16 mg/kg	116 ± 1	< 0,001
Ejemplo 1 a 32 mg/kg	46 ± 4	< 0,001

Tabla 2: Eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en injertos heterólogos gástricos MKN45

Grupo de tratamiento	Volumen medio del tumor ± Error estándar (mm ³)	valor p el día 37
Vehículo	736 ± 115	-----
Ejemplo 1 a 4 mg/kg	329 ± 54	< 0,001
Ejemplo 1 a 8 mg/kg	296 ± 29	< 0,001
Ejemplo 1 a 16 mg/kg	166 ± 10	< 0,001
Ejemplo 1 a 32 mg/kg	161 ± 14	< 0,001

Tabla 3: Eficacia antitumoral del Ejemplo 1 en injertos heterólogos pancreáticos KP4

Grupo de tratamiento	Volumen medio del tumor \pm Error estándar (mm ³)	valor p el día 37
Vehículo	1123 \pm 125	-----
Ejemplo 1 a 2 mg/kg	1229 \pm 83	No significativo
Ejemplo 1 a 4 mg/kg	1085 \pm 256	No significativo
Ejemplo 1 a 8 mg/kg	627 \pm 74	< 0,01
Ejemplo 1 a 16 mg/kg	554 \pm 47	< 0,001
Ejemplo 1 a 32 mg/kg	273 \pm 42	< 0,001

Estos datos demuestran que el compuesto de la invención inhibe el crecimiento tumoral *in vivo*.

El compuesto de la invención se ha descubierto que exhibe propiedades *in vivo* superiores con respecto a compuestos relacionados estructuralmente, tal como el ejemplo 25 del documento WO 2008051808 A2 en adelante "el compuesto de referencia." El compuesto de referencia y el compuesto de la invención tienen pesos moleculares similares y potencias *in vivo* comparables que están dentro de la relación mínima significativa (MSR), por tanto no estadísticamente diferentes (IC₅₀ de c-Met de 0,010 μ M para el compuesto del ejemplo 1 comparado con 0,015 μ M para el compuesto de referencia). El ensayo H460 mostraba una IC₅₀ de 0,036 μ M para el compuesto del ejemplo 1 comparado con 0,065 μ M para el compuesto de referencia. Para el ensayo H460 los valores de potencia están dentro de la MSR y no son estadísticamente diferentes uno de otro.

Análogamente, tanto el compuesto del ejemplo 1 como el compuesto de referencia son altamente selectivos para el receptor c-Met. En un cribado de Cerep de 99 quinasas empleando el Express Diversity Kinase Profile®, ambos compuestos inhibían sólo al c-Met. El Express Diversity Kinase Profile® es un servicio de cribado desarrollado por Cerep SA (Paris, France). Detalles de las condiciones de ensayo y/o la información de contacto se pueden encontrar su página web <http://www.cerep.fr/cerep/users/pages/catalog/profiles/catalog.asp>.

No obstante, la comparación frente a frente del compuesto del Ejemplo I con el compuesto de referencia muestra que tras 8 horas el compuesto de fórmula I exhibe una ventaja significativa en cuanto a exposición al plasma e inhibición de fosfo cMET en tumores S114 comparado con el compuesto de referencia en estudios de inhibición tumoral *in vivo* tal y como se muestra en la tabla 4 siguiente.

Tabla 4

Ensayo	Compuesto del Ejemplo 1	Compuesto de Referencia	valor p
Conc. Plasma (ng/ml) 8 mg/kg tras 8 h	141	14	< 0,0001
Conc. Plasma (ng/ml) 20 mg/kg tras 8 h	318	17	< 0,0001
% Inhibición fosfo-Met a 8 mg/kg tras 8 h	75	-5,45	< 0,0001
% Inhibición fosfo-Met a 20 mg/kg tras 8 h	93	0,57	< 0,0001
% Inhibición IVTI dosis única tras 2 h**	98***	84****	< 0,0001
** efectuada en experimentos separados del estudio frente a frente			
*** dosis administrada de 16 mg/kg			
**** dosis administrada de 20 mg/kg			

Los resultados anteriores indican que el compuesto del ejemplo 1 produce un efecto farmacodinámico más sostenido (a lo largo de 8 horas) comparado con el compuesto de referencia. Los datos anteriores sugieren que el compuesto del ejemplo 1 puede ser dosificado con menor frecuencia (por ejemplo dos veces al día (BID) o régimen diario) mientras que el compuesto de referencia puede requerir regímenes de dosificación mucho más frecuentes que pueden crear problemas de cumplimiento por parte del cuidador o el paciente. El análisis de los datos del % de inhibición de fosfo-Met muestra que la concentración en el plasma para ambas dosis (8 mg/kg y 20 mg/kg) del compuesto del ejemplo 1 son estadísticamente diferentes comparado con las dosis correspondientes del compuesto de referencia con un valor p de <0,0001. Asimismo, ambas dosis del compuesto del ejemplo 1 son estadísticamente diferentes de las del grupo vehículo, p < 0,0001, y también estadísticamente diferentes entre sí, p = 0,0058. Estos

datos se analizaron usando análisis de varianza de una variable. La tasa de error por experimento para todas las comparaciones por pares fue estrictamente controlada al 5 % usando el método de Tukey para pruebas múltiples.

En los estudios IVTI, cada compuesto se administra oralmente y se formula en goma arábiga al 10 % p/v. Se recogen muestras de sangre de ratón con anticoagulante (Tubo Vacutainer tapa morada - EDTA) después de la
5 dosis usando técnicas de punción cardíaca. Los tubos se invierten 3-5 veces y se disponen sobre hielo hasta la centrifugación a 3000 RPM (1800 x g) durante 10 min a 4 °C para obtener el plasma. Se pipetea alícuotas de plasma y se almacenan en una placa de 96 pocillos limpia. Las muestras de plasma se almacenan inmediatamente a -80 °C. Remesas de las muestras de plasma se envasan en hielo seco y las muestras se congelan a -80 °C hasta el análisis.

10 Se preparó una solución madre 0,1 mg/ml de cada fármaco y se diluye en serie en plasma combinado de ratón para preparar estándares que varían de 1 a 5000 ng/ml. Se tratan los estándares de plasma o las muestras (0,025 ml) en placas de 96 pocillos mediante precipitación de proteínas con la adición de 0,1-0,2 ml de metanol:acetonitrilo (1/1, v/v) que contiene un estándar interno. Las mezclas se centrifugan a 4000 rpm a 4 °C durante 10 min y se transfieren alícuotas (0,05 ml) de las fracciones sobrenadantes resultantes a una placa de 96 pocillos diferente. Las muestras y
15 los estándares se analizan con un Espectrómetro de Masas Sciex API 4000 Triple Quadrupole (Sciex, Division of MDS Inc., Toronto, Canada) acoplado a un Sistema de HPLC Shimadzu (LC-LOAD, Shimadzu Corporation) y a un Automuestreador Gilson 215. Las muestras (0,01 ml) se inyectan en una columna de HPLC de 5- μ m de Betasil C18 20 x 2,1 mm Javelin (Thermo Electron Corp. Cat#70105-022106) y se eluyen con un gradiente. Las condiciones cromatográficas consistían en una fase móvil A de agua / NH_4HCO_3 1 M (2000:10, v/v) y una fase móvil B de MeOH / N NH_4HCO_3 1 M (2000:10, v/v) que se hace pasar a lo largo de un gradiente 2,5-min a una velocidad de flujo de 1,5 ml/min. Se usan un modo de ion positivo con turbopulverizador y una temperatura de fuente iónica de 740 °C para la
20 detección por espectrometría de masas. La cuantificación se efectúa usando monitorización de reacciones múltiples (MRM) a las siguientes transiciones: El ejemplo 1 (m/z 363,05 a m/z 163,10) y el compuesto de referencia (m/z 363,05 a m/z 163,10). Las gráficas de regresión lineal de las relaciones del área bajo los picos de los compuestos con respecto a un estándar interno frente a las de las concentraciones de fármaco se derivan con cuadrática $1/x^2$.

El compuesto de la presente invención también es significativamente más soluble que el compuesto de referencia.

La solubilidad del Ejemplo 1 y la del compuesto de referencia (ejemplo 25 de la publicación WO 2008051808 A2) se miden colocando una pequeña cantidad de cada uno en un vial de vidrio que se tapa y se hace girar durante la
30 noche en condiciones ambientales (18 h). El medio incluía fluido gástrico simulado (SGF) que consiste en HCl 0,01 N, lauril sulfato sódico al 0,05 %, y NaCl al 0,2 %; fluido intestinal simulado en estado de ayuno (SIF-ayuno) que está compuesto por NaH_2PO_4 29 mM, taurocolato de Na 3 mM, lecitina 0,75 mM, NaCl 103 mM, y NaOH a pH 6,5; fluido intestinal simulado en estado alimentado (SIF-alimentado) que consiste en ácido acético 144 mM, taurocolato de Na 15 mM, lecitina 3,75 mM, NaCl 204 mM, y NaOH a pH 5,0; y tampones a pH 4,5, 6 y 7,5 que son tampones fosfato 28-56 mM. Las concentraciones de compuesto se determinan usando HPLC Agilent 1200 (LC5) con un detector UV. La fase móvil usa A (85 %) que es agua que contiene TFA al 0,1 % y B (15 %) que es ACN a una
35 velocidad de flujo de 1 ml/min y tiempo de recorrido de 10 min. Se usa una columna de Zorbax, Bonus-RP (3,5 mm, 4,6375 mm; SN: USTM002428) en los estudios.

Los datos que siguen muestran que el compuesto del Ejemplo 1 es aproximadamente 13 y 14 veces más soluble en el fluido intestinal simulado (SIF) en los estados de ayuno y alimentado, respectivamente, cuando se compara con el
40 compuesto de referencia.

Tabla 5: Solubilidad dinámica mg/ml

Ensayo	Compuesto del Ejemplo 1	Compuesto de Referencia
SGF	0,052	0,057
SIF Ayuno	0,013	0,001
SIF Alimentado	0,070	0,005
HCl 0,1 N	0,033	1,894
HCl 0,01 N	0,011	0,332
Agua	0,009	0,001
Tampón pH \geq 4	~0,010	~0,002

Solubilidad 2: Selecciones de la solubilidad cinética

- El ensayo se usa para determinar el intervalo de concentraciones en el que un compuesto que ha sido presolubilizado en DMSO a 10 mM precipitará en una solución. El ensayo se lleva a cabo en un formato de selección en una placa de 96 pocillos y mide la nefelometría (la dispersión de la luz) del compuesto precipitado en tampón fosfato acuoso (50 mM; pH 7,4). Este método consiste en una incubación de 2 horas a TA (temperatura ambiente) del compuesto en el tampón a concentraciones de 10, 20, 40, 60, 80, y 100 μM (en las que el % de DMSO se mantiene constante). Las placas se leen previamente mediante el nefelómetro para determinar si hay arañazos o partículas de polvo y esto se usa para la sustracción de la dispersión de fondo. Los valores que se obtienen son las concentraciones a las que se consiguen el último soluble y el primero insoluble. Estos ensayos no están optimizados para determinar la solubilidad en equilibrio o determinar una solubilidad cinética "verdadera".
- Los datos de selección que siguen muestran que el compuesto del Ejemplo 1 es al menos 3 veces más soluble en tampón a pH 7,4 cuando se compara con el compuesto de referencia.

Tabla 6

Compuesto de ensayo	primer insoluble a pH 7,4	último soluble a pH 7,4
Ejemplo 1 (μM)	No detectado	> 100
Referencia (μM)	49	29

- El compuesto de la invención muestra una diferencia significativa en los parámetros de farmacocinética comparado con el compuesto de referencia en estudios de biodisponibilidad en ratas. El compuesto de la presente invención proporciona una eliminación del plasma 18 veces inferior y una vida media de eliminación terminal 4 veces más prolongada tras una dosis intravenosa de 1 mg/kg de formulación en solución. Tras una dosis oral de 10 mg/kg de formulación en suspensión de goma arábiga al 10%, el compuesto de la presente invención proporciona una exposición 57 veces y 93 veces mayor medida mediante el área bajo la curva (AUC) de la concentración plasmática máxima o de la concentración plasmática, respectivamente. La biodisponibilidad oral del compuesto de la presente invención es del 65,8 % comparado con el 14,6 % para el compuesto de referencia, un aumento de 4,5 veces.

- En estudios de biodisponibilidad en ratas, cada compuesto se administra intravenosamente (IV) u oralmente (PO). La dosificación intravenosa se formula en una formulación en solución y la dosificación oral se formula en goma arábiga al 10 % p/v. Se recogen muestras de sangre de rata usando tubos de recogida con anticoagulante (EDTA) y se efectúa la centrifugación para obtener las muestras de plasma. Se pipetea alícuotas de plasma y se almacenan inmediatamente a <-20 °C. Se envasan remesas de las muestras de plasma en hielo seco si es necesario y las muestras se congelan a <-20 °C hasta el análisis.

- Se prepara una solución madre de cada fármaco y se diluye en el plasma de rata combinado para preparar estándares. Los estándares del plasma o las muestras se tratan mediante precipitación de proteínas o extracción líquido-líquido usando un disolvente orgánico que contiene un estándar interno. Las mezclas se centrifugan y se transfieren alícuotas de las fracciones sobrenadantes resultantes. En el caso de la precipitación de proteínas, el sobrenadante se diluye y se analiza usando un Espectrómetro de Masas acoplado a un Sistema HPLC y a un Automuestreador. En el caso de la extracción líquido-líquido, el sobrenadante se seca en atmósfera de N_2 a 40 °C, se reconstituye y se analiza usando un Espectrómetro de Masas acoplado a un Sistema HPLC y a un Automuestreador. La cuantificación se efectúa usando la monitorización de reacciones múltiples (MRM) y las gráficas de regresión lineal de las relaciones del área bajo los picos de los compuestos con respecto a un estándar interno frente a las concentraciones de fármaco.

Tabla 7

Ensayo Biodisponibilidad en ratas	Compuesto del Ejemplo 1*	Compuesto de Referencia	valor p
Dosis IV (mg/kg)	1	1	
T1/2 (h)	2,3	0,6	p = 0,0027 (log T 1/2)
C1 (ml/min/kg)	1,7	31	p = 0,0003
Vdss (l/kg)	0,3	0,8	p = 0,0001
Dosis PO (mg/kg)	10	10	
Cmax (ng/ml)	9401	164	p = 0,0006 (log Cmax)

Tmax (h)	3,33	0,917	p = 0,0486
AUC (ng*h/ml)	73753	794	p = 0,0002 (log AUC)
% F	65,8	14,6	p = 0,0002
*Biodisponibilidad en ratas efectuada usando la sal mesilato del compuesto del ejemplo 1			

Los datos anteriores muestran que la sal mesilato del compuesto del ejemplo 1 presenta mayor biodisponibilidad que el compuesto de referencia. Además, para propósitos de dosificación oral, los datos disponibles sugieren niveles de exposición similares para las formas base y sal del compuesto del ejemplo 1,

- 5 El compuesto del ejemplo 1 también se puede formular y/o administrar en un régimen de combinación con un agente o agentes anticancerígenos adecuados u otras terapias adyuvantes. Dichas combinaciones pueden estar en forma de un cóctel en el que se administran dosis individuales de las diferentes terapias conjuntamente, secuencialmente o al cabo de intervalos apropiados.

10 El compuesto de la presente invención se formula preferiblemente en forma de composición farmacéutica administrada mediante vías diversas que incluyen, pero no se limitan a las mismas, la vía oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, e intranasal. El compuesto de la presente invención se administra preferiblemente oral o intravenosamente. El compuesto se formula preferiblemente antes de la administración, la selección de la vía que se va a usar la efectuará el médico encargado o un cuidador cualificado. Más preferiblemente, se formula una composición del compuesto de la presente invención para administración oral. Una
15 forma de dosificación particularmente preferida del compuesto de la presente invención es un comprimido, un comprimido oblongo o una cápsula. También se prefiere una formulación sólida de liberación rápida que puede estar cubierta o aromatizada apropiadamente para mejorar la facilidad de cumplimiento de la terapia dependiendo de las preferencias o la edad del paciente. En otra realización preferida adicional, la composición farmacéutica de la presente invención comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

20 Las composiciones farmacéuticas y los procedimientos para prepararlas son bien conocidos en el estado de la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, y col., eds., 19th ed., Mack Publishing Co., 1995). Por tanto, el experto en la materia será capaz de formular el compuesto de la presente invención en forma de una formulación sólida, líquida, intravenosa, un depósito subcutáneo, un parche transdérmico u otra sin una experimentación indebida.

25 El compuesto de la presente invención es generalmente eficaz a lo largo de un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día pueden estar dentro del intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg de dosis diaria total, preferiblemente de 10 mg a 500 mg de dosis diaria total. Más preferiblemente, la dosificación es de aproximadamente 50 a 200 mg por día. Más preferiblemente, la dosificación es de aproximadamente 50-80 mg dos veces al día (b.i.d). En algunos casos, dosis por debajo del límite inferior de los
30 intervalos mencionados puede ser más que adecuada, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores. Los intervalos de dosis anteriores se pretende que no limiten el alcance de la invención en ningún sentido. Se entenderá que la cantidad del compuesto de la invención administrada realmente será determinada por un médico a la vista de las circunstancias relevantes que incluyen el trastorno a tratar, la vía de administración elegida, los compuestos administrados en caso de un cóctel o una terapia de combinación de dosis fija, la, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente, entre otros factores.
35

Modelos de injerto heterólogo y tumores relevantes de c-Met

La sobreexpresión de c-Met es una característica común para muchos tumores humanos, que incluyen cáncer de pulmón, de mama, colorrectal, gástrico, renal, pancreático, de cabeza y cuello (1,2). Las mutaciones en la activación de c-Met en el dominio quinasa están implicadas como la causa de diversos tumores, tal como carcinoma de células
40 renales papilar hereditario, carcinoma hepatocelular infantil, y cáncer gástrico (3-7). Los inhibidores de c-Met de Pfizer demostraron eficacia antitumoral en muchos tumores de injerto heterólogo humano que incluyen U87MG, GTL16, H441, Caki-1, y PC3 (8).

1. Christinsen, JG., Burrows, J., y Salgia, R. Cancer Letters 225: 1-26, 2005,
2. Birchmeier, C., Birchmeier, W., Gherardi, E., y Vande Woude, GF. Nat Rev Mol Cell Biol 4: 915-925, 2003,
- 45 3. Di Renzo, MF., Olivero, M., Martone, T. Y col. Oncogene 19: 1547-1555, 2000,
4. Lee, JH., Han, SU, Cho, H. y col. Oncogene 19: 4947-4953, 2000,
5. Ma, PC., Kijima, T., Maulik, G. y col. Cancer Res 63: 6272-6281, 2003,

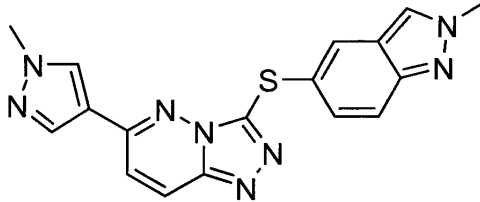
ES 2 516 940 T3

- 6, Park, WS., Dong, SM., Kim, SY. y col. Cancer Res 59 : 307-310, 1999,
- 7, Schmidt, I., Duh, FM., Chen, F., y col. Nat Genet 16: 68-73, 1997,
- 8, Zou, HY., Li, Qihua., Lee, JH., y col. Cancer Res 67: 4408-4417, 2007,

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula

5



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

2. Una sal de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la sal es la sal del ácido clorhídrico, sal bisulfato, o sal del ácido metanosulfónico.

3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

4. Un compuesto o una sal de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para su uso en terapia.

5. Un compuesto o una sal de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para su uso en el tratamiento del cáncer.

6. Un compuesto o una sal para su uso de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el cáncer se selecciona de entre cáncer gástrico, cáncer pancreático y glioblastoma.

20