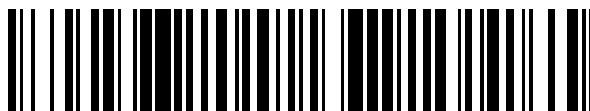


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 718**

51 Int. Cl.:

**C07D 239/94** (2006.01)

**A61K 31/517** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2008 E 08743752 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2190287**

54 Título: **Inhibidores de EGFR basados en sales de tartrato o complejos de quinazolina que contienen un resto que se une al cinc**

30 Prioridad:

**10.09.2007 US 971056 P**

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

**14.01.2015**

73 Titular/es:

**CURIS, INC. (100.0%)  
4 Maguire Road  
Lexington, MA 02421, US**

72 Inventor/es:

**CAI, XIONG;  
QIAN, CHANGGENG y  
ZHAI, HAIXIAO**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 526 718 T3**

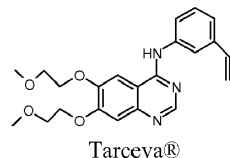
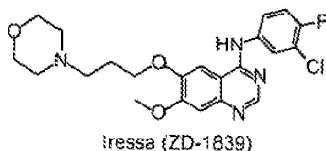
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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 de EGFR basados en sales de tartrato o complejos de quinazolina que contienen un resto que se une al cinc

## Antecedentes de la invención

- 5 El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, Erb-B1) pertenece a una familia de proteínas, implicadas en la proliferación de células normales y malignas (Artega, C.L., J. Clin Oncol 19, 2001, 32-40). La sobreexpresión del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) está presente en al menos el 70% de los cánceres humanos (Seymour, L.K., Curr Drug Targets 2, 2001, 117-133), tales como carcinomas de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cánceres de mama, gliomas, carcinoma de células escamosas de la cabeza y cuello, y cáncer de próstata (Raymond et al., Drugs 60 Suppl 1, 2000, discusión 41-2; Salomon et al., Crit Rev Oncol Hematol 19, 1995, 183-232; Voldborg et al., Ann Oncol 8, 1997, 1197-1206). El EGFR-TK está por lo tanto ampliamente reconocido como una diana atractiva para el diseño y desarrollo de compuestos que puedan unirse específicamente a, e inhibir la actividad de, la tirosina cinasa y su ruta de transducción de señales en las células cancerosas, y por tanto puedan servir como agentes diagnósticos o bien terapéuticos. Por ejemplo, el inhibidor reversible de tirosina cinasa EGFR (EGFR-TK), Tarceva®, fue aprobado recientemente por la FDA para el tratamiento de NSCLC y cáncer pancreático avanzado. Se han aprobado también otras moléculas con objetivo anti-EGFR, tales como Iressa®.



- 20 A pesar del éxito inicial de Tarceva, ha llegado a ser claro que tener como objetivo selectivamente cinasas individuales puede conducir al desarrollo de tumores resistentes a los fármacos. Las células que han desarrollado mutaciones dentro de la cavidad de unión fármaco/cinasa muestran una ventaja de crecimiento en presencia del fármaco, conduciendo al final a la progresión de la enfermedad. Las estrategias clínicas actuales que tengan como objetivo combinar estos fármacos molecularmente dirigidos con quimioterapéuticos estándar, radiación, u otros agentes dirigidos conducirán a nuevas estrategias para mejorar la tasa de respuesta global y aumentar el número de remisiones completas.

- 25 Además, la dilucidación de la naturaleza compleja y multifactorial de diversas enfermedades que implican múltiples rutas patogénicas y numerosos componentes moleculares sugiere que las terapias de dianas múltiples pueden ser ventajosas sobre las monoterapias. Por ejemplo, se ha demostrado que el uso de inhibidores de EGFR en combinación con histona desacetilasas (HDAC) produce efectos sinérgicos. La acetilación de histonas es una modificación reversible, siendo la desacetilación catalizada por una familia de enzimas llamadas HDACs. Las HDACs son representadas por genes X en los seres humanos, y se dividen en cuatro clases distintas (J Mol Biol, 2004, 338:1, 17-31). En los mamíferos, las HDACs de clase I (HDAC-3, y HDAC8) están relacionadas con RPD3 HDAC de levadura, clase 2 (HDAC4-7, HDAC9 y HDAC10) relacionada con HDA1 de levadura, clase 4 (HDAC11), y clase 3 (una clase distinta que abarca las sirtuinas que están relacionadas con Sir2 de levadura).

- 35 Los avances recientes sugieren que los inhibidores de EGFR-TK en combinación con inhibidores de HDAC pueden proporcionar resultados ventajosos en el tratamiento del cáncer. La solicitud provisional de patente de EE.UU. N° 60/843.644, presentada el 11 de septiembre de 2006, y la solicitud provisional de patente de EE.UU. N° 60/895.873, presentada el 20 de marzo de 2007, y el documento USSN 11/852.604, presentado el 10 de septiembre de 2007, los contenidos de los cuales se incorporan en la presente memoria por referencia, describen derivados basados en quinazolina que contienen restos que se unen al cinc que tienen propiedades potenciadas e inesperadas como inhibidores de la tirosina cinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR-TK), HDAC y HER2. Se encontró, sorprendentemente, que los compuestos tienen una actividad potenciada cuando se comparan con las actividades de moléculas independientes que tienen individualmente las actividades EGFR-TK y HDAC, y combinaciones de las mismas. En otras palabras, la combinación de farmacóforos en una única molécula puede proporcionar un efecto sinérgico en comparación con los farmacóforos individuales.

- 45 Se ha demostrado que los compuestos de quinazolina descritos anteriormente son eficaces en disminuir el tamaño del tumor en diversos modelos animales. Sería ventajoso preparar composiciones farmacéuticamente aceptables, complejos y sales de estos compuestos de quinazolina.

## Compendio de la invención

- 50 La presente solicitud está dirigida al tema de las reivindicaciones adjuntas. Como se muestra más adelante en el Ejemplo 53, las formulaciones que contienen ácido tartárico y compuestos tales, que incluyen, pero no se limitan a, sales de tartrato o complejos de los compuestos de quinazolina, tienen mayor solubilidad y estabilidad que las correspondientes sales de sodio, hidrócloruro y ácido cítrico. Además, las formulaciones que contienen ácido tartárico y compuestos tales, que incluyen, pero no se limitan a, sal de tartrato o complejo de un compuesto

abarcado por la Fórmula I, han mostrado que permiten la administración de una dosis diaria más alta del compuesto activo que las sales de sodio, hidrocloreuro o ácido cítrico.

5 "Complejo" pretende incluir una asociación entre el compuesto activo y ácido tartárico o una sal de tartrato (que incluye, pero no se limita a, unión iónica) que comunica una modificación al menos a una propiedad física o química del agente activo (p.ej., solubilidad o estabilidad). La relación de compuesto activo al ácido tartárico puede ser estequiométrica o no estequiométrica.

En aún otra realización, el tartrato descrito anteriormente es el ácido L-tartárico.

En una realización adicional, el tartrato es el ácido D-tartárico.

En una realización adicional, el tartrato es el ácido meso-tartárico.

10 En aún otra realización, el tartrato es el ácido D, L-tartárico.

### Breve descripción de los dibujos

15 Los anteriores y otros objetos, rasgos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción más particular de realizaciones preferidas de la invención, ilustradas en los dibujos acompañantes, en los que los caracteres de referencia similares se refieren a las mismas partes en todas las diferentes vistas. Los dibujos no están necesariamente a escala, siendo puesto el énfasis por el contrario en ilustrar los principios de la invención.

La Figura 1 (a) representa un gráfico de resultados del ensayo de la enzima EGFR, (b) representa un gráfico de resultados del ensayo de la enzima HDAC.

La Figura 2 ilustra la inhibición de HDAC y EGFR en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-468: (a) Acumulación de Ac-H4, (b) Acumulación de Ac-H3, (c) inhibición de EGFR.

20 La Figura 3 muestra datos comparativos de actividad anti-proliferativa contra varias líneas celulares de cáncer diferentes: (a) cáncer pancreático (BxPC3), (b) NSCLC (H1703), (c) cáncer de mama (MDA-MB-468), (d) cáncer de próstata (PC3).

La Figura 4 ilustra la potencia de la inducción del compuesto 12 de apoptosis en células cancerosas: (a) HCT-116 (colon, 24 horas), (b) SKBr3 (mama, 24 horas).

25 La Figura 5 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto de Tumor Epidermoide A431 (Dosificación IP).

La Figura 6 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto H358 NSCLC (infusión IV 2-Min).

La Figura 7 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto H292 NSCLC (infusión IV 2-Min).

30 La Figura 8 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto de Cáncer Pancreático BxPC3 (infusión IV 2-Min).

La Figura 9 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto de Cáncer de Próstata PC3 (infusión IV 2-Min).

La Figura 10 muestra la eficacia del compuesto 12 en el Modelo de Xenoinjerto de Cáncer de Colon HCT116 (infusión IV 2-Min).

35 La Figura 11A muestra el porcentaje de cambio en el tamaño del tumor en animales tratados con el compuesto 12 o vehículo en el modelo de Xenoinjerto A549 NSCLC.

La Figura 11B muestra el porcentaje de cambio en el tamaño del tumor en animales tratados con Erlotinib y control en el modelo de Xenoinjerto A549 NSCLC.

40 La Figura 12A muestra el porcentaje de cambio en el tamaño del tumor en animales tratados con el compuesto 12, Erlotinib o vehículo en células de cáncer pancreático HPAC.

La Figura 12B muestra el porcentaje de cambio en peso corporal en animales tratados con el compuesto 12, Erlotinib o vehículo en células de cáncer pancreático HPAC.

La Figura 13 muestra la concentración del compuesto 12 en plasma, pulmón y colon después de la administración de sales de hidrocloreuro, citrato, sodio y tartrato del compuesto 12.

45 La Figura 14 muestra la concentración del compuesto 12 en el plasma de ratones administrados con el compuesto 12 en CAPTISOL al 30%.

La Figura 15 muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal de ratones después de la administración de una dosis IV del compuesto 12 (25, 50, 100, 200 y 400 mg/kg) en CAPTISOL al 30%.

La Figura 16 muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal de ratones después de 7 días de dosificación IP repetida del compuesto 12 (25, 50, 100, 200 y 400 mg/kg) en CAPTISOL al 30%.

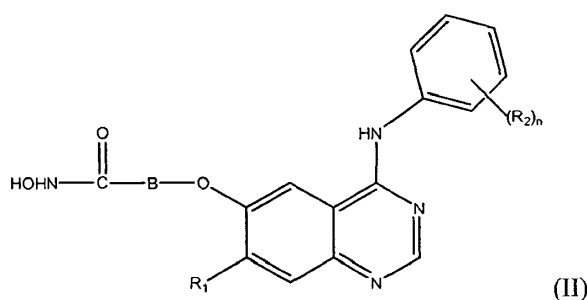
- 5 La Figura 17 muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal de ratas después de la administración de una dosis IV del compuesto 12 (25, 50, 100 y 200 mg/kg) en CAPTISOL al 30%.

La Figura 18 muestra el porcentaje de cambio en el peso corporal de ratas y consumo de comida después de 7 días de dosificación IP repetida del compuesto 12 (50, 100 y 200 mg/kg) en CAPTISOL al 30%.

- 10 La Figura 19 muestra la concentración del compuesto 12 en el plasma de perros administrados con la sal de tartrato del compuesto 12 en CAPTISOL.

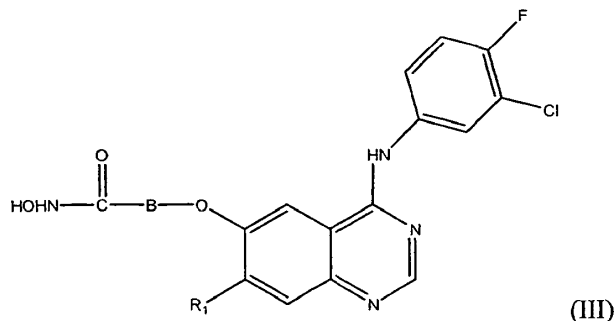
### Descripción detallada de la invención

En la invención, el compuesto se representa por la fórmula (II)



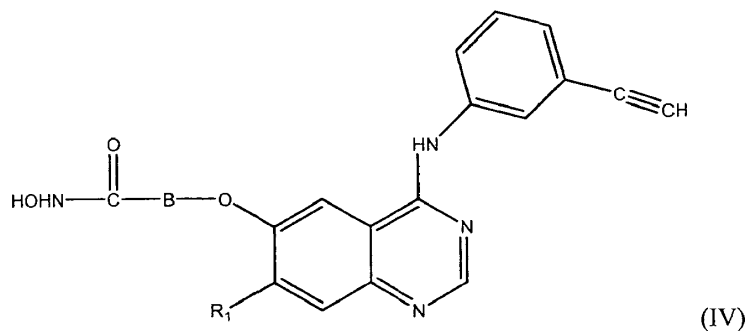
en donde B, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y n son como se define en la reivindicación 1.

- 15 En una realización preferida, el compuesto se representa por la fórmula (III) :



en donde B y R<sub>1</sub> son como se definieron previamente.

En otra realización, el compuesto se representa por la fórmula (IV):

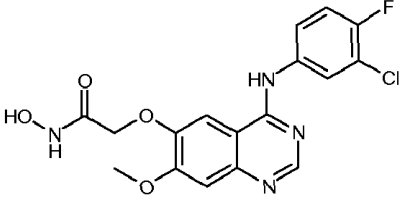
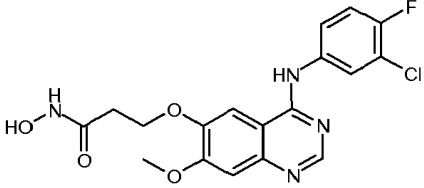
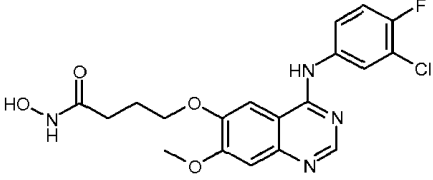
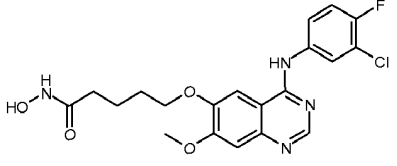
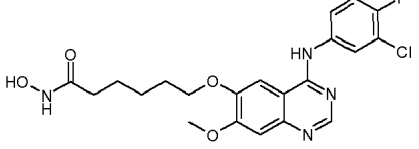
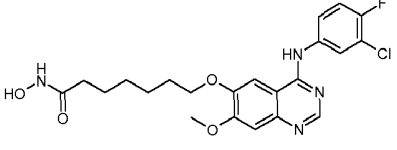
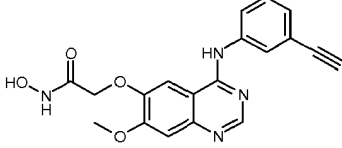
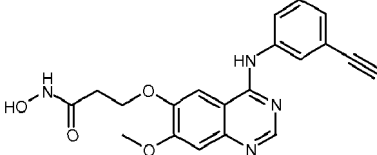


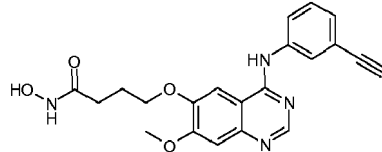
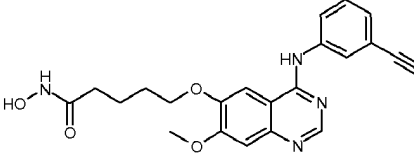
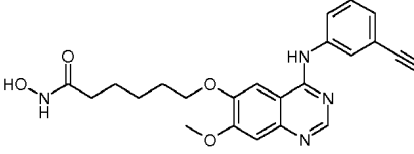
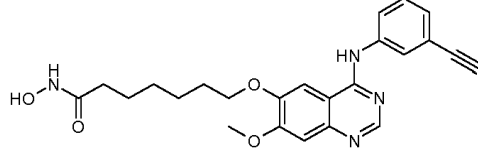
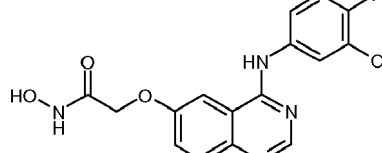
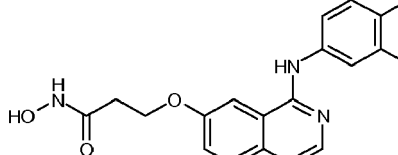
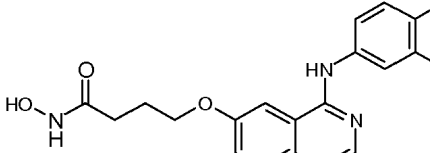
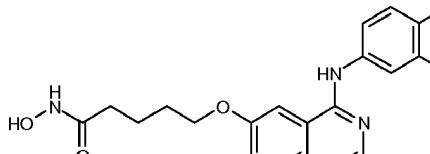
- 20 en donde B y R<sub>1</sub> son como se definieron previamente.

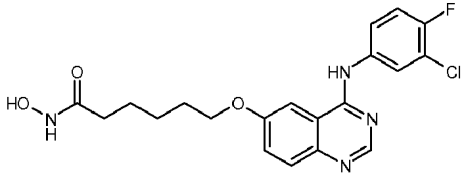
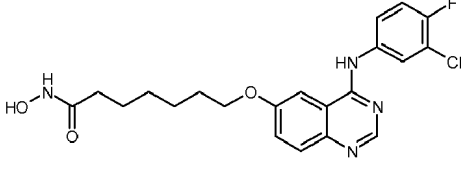
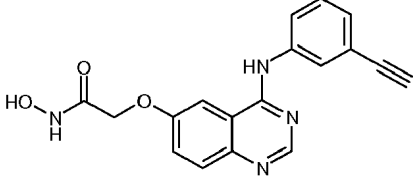
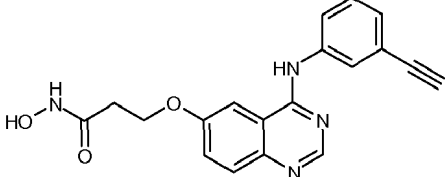
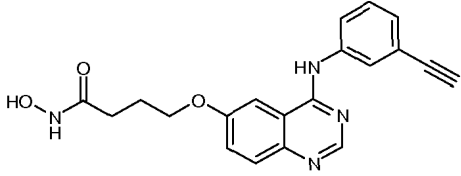
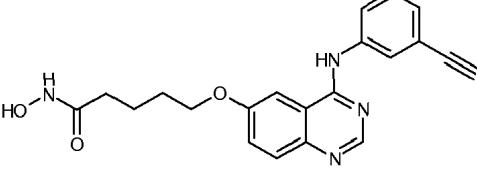
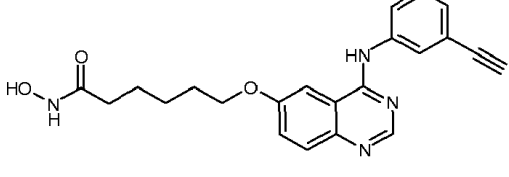
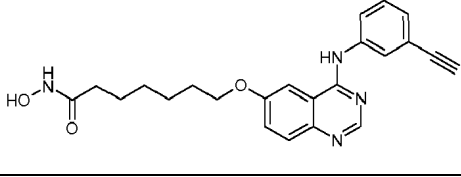
En cada una de las realizaciones anteriores, R<sub>1</sub> es preferiblemente hidrógeno, metoxi o metoxietoxi y, independientemente o colectivamente, B es preferiblemente un alquileo C<sub>5</sub> a C<sub>7</sub> de cadena lineal, lo más preferiblemente un alquileo C<sub>6</sub> de cadena lineal.

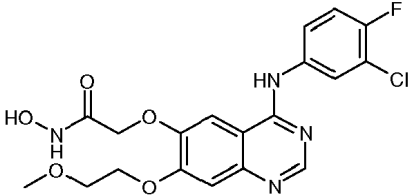
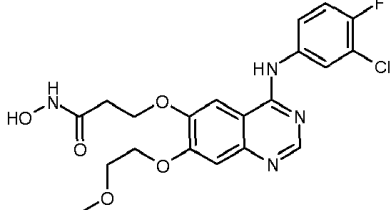
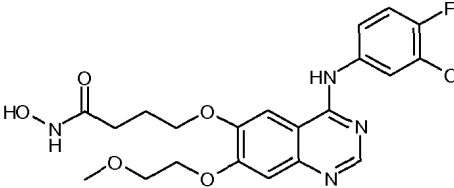
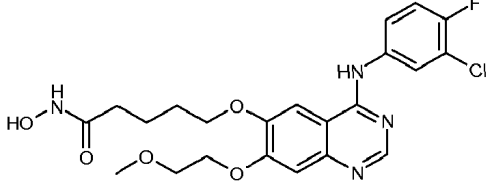
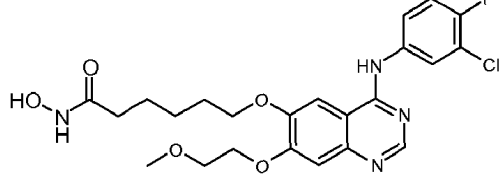
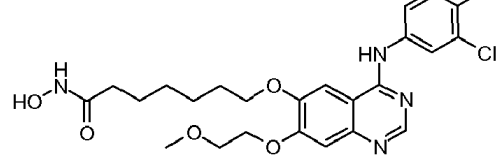
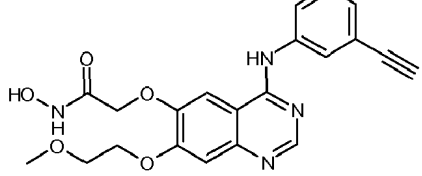
En una realización, la presente invención está dirigida a una sal de tartrato de o complejo con un compuesto seleccionado de la Tabla A a continuación:

TABLA A

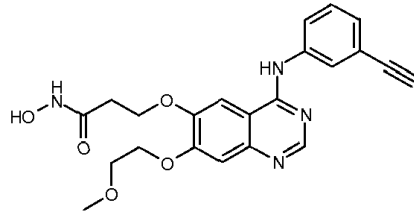
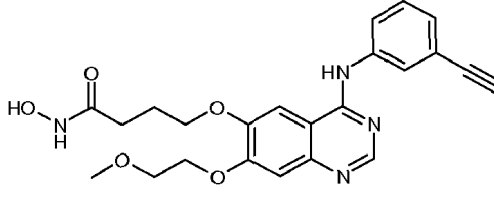
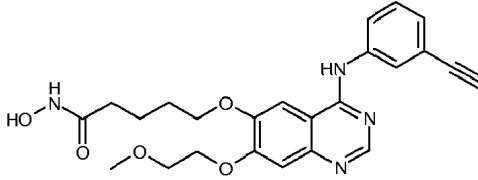
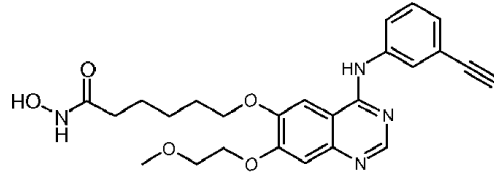
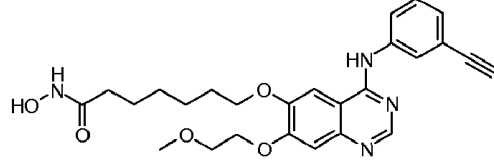
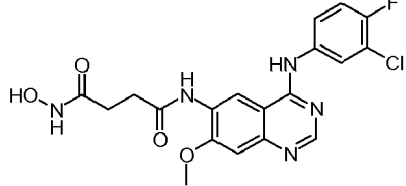
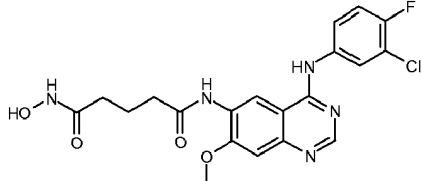
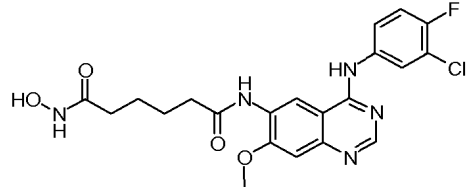
Compuesto N°	Estructura
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

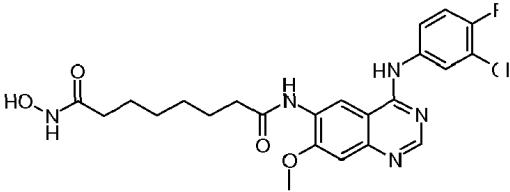
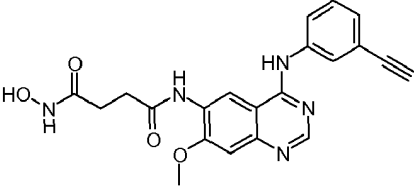
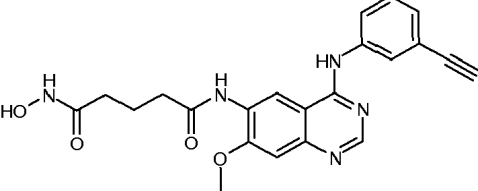
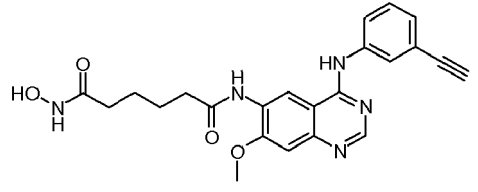
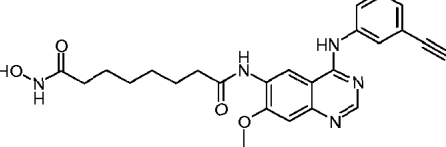
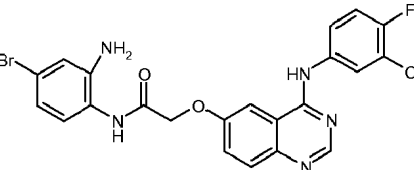
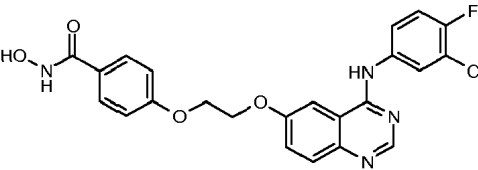
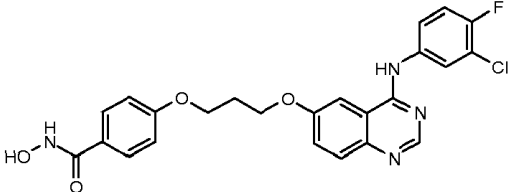
Compuesto N°	Estructura
9	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCO</chem>
10	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCCO</chem>
11	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCCCO</chem>
12	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCCO</chem>
13	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCO</chem>
14	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCO</chem>
15	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCO</chem>
16	 <chem>CC1=CC=C(C#N)N=C1C2=CC=C(C=C2)OC3=CC=CC=C3OCCCCCCO</chem>

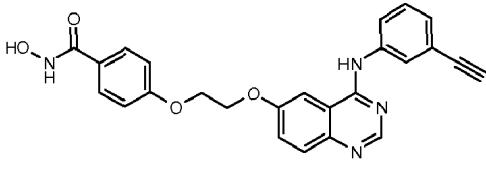
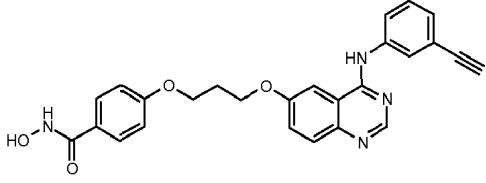
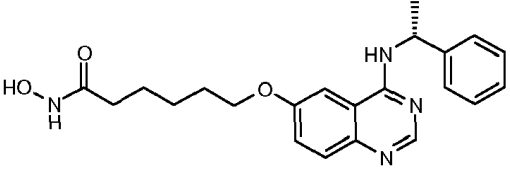
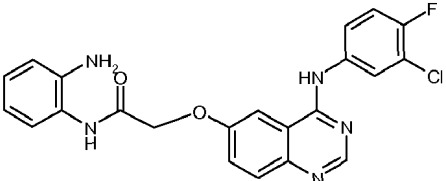
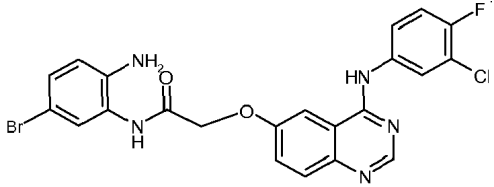
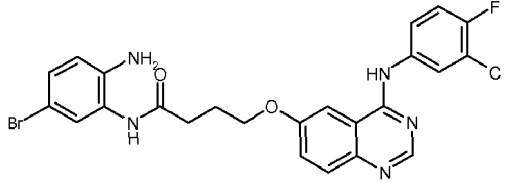
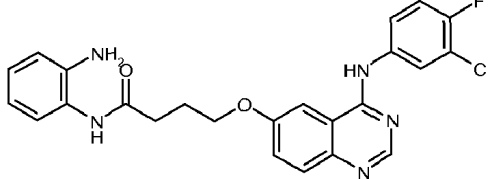
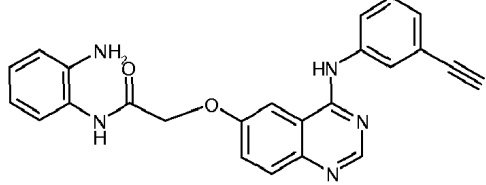
Compuesto N°	Estructura
17	 <chem>O=C(O)NCCCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C(F)=C(Cl)</chem>
18	 <chem>O=C(O)NCCCCCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C(F)=C(Cl)</chem>
19	 <chem>O=C(O)NCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>
20	 <chem>O=C(O)NCCCOCC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>
21	 <chem>O=C(O)NCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>
22	 <chem>O=C(O)NCCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>
23	 <chem>O=C(O)NCCCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>
24	 <chem>O=C(O)NCCCCCCCCOC1=CC=C2N=CN=C2=C1NC3=CC=C(C=C3)C#C</chem>

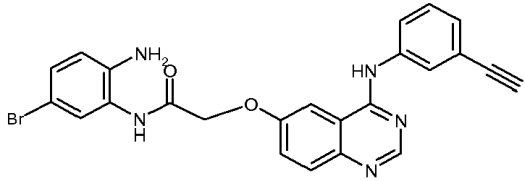
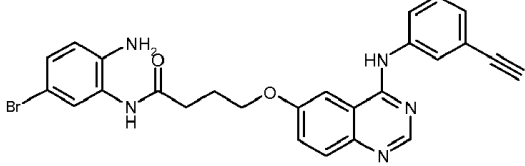
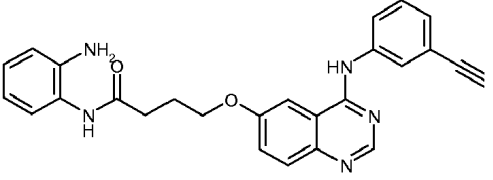
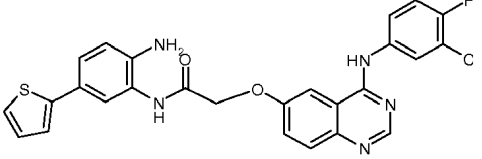
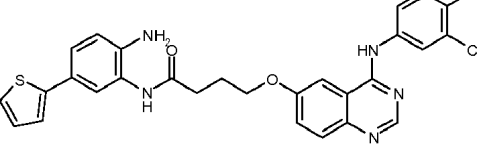
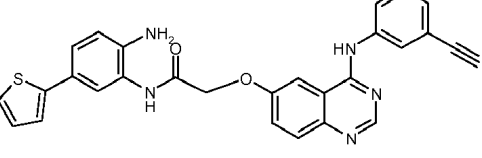
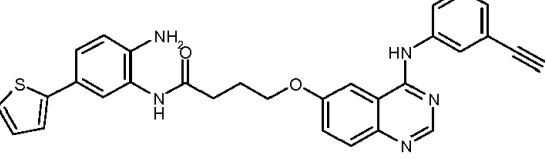
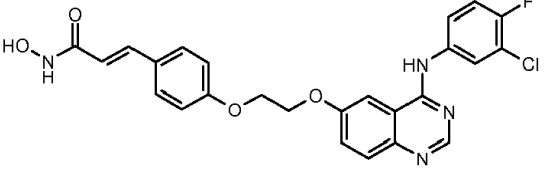
Compuesto N°	Estructura
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	

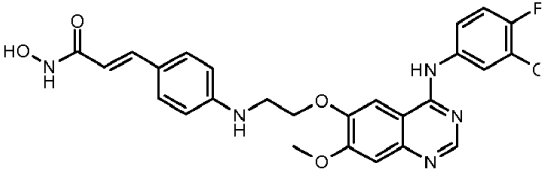
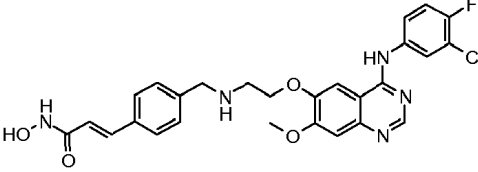
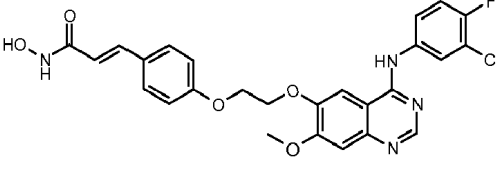
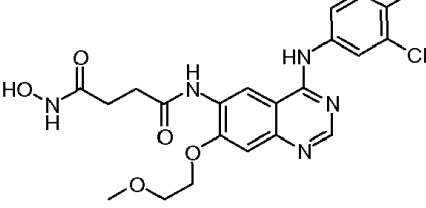
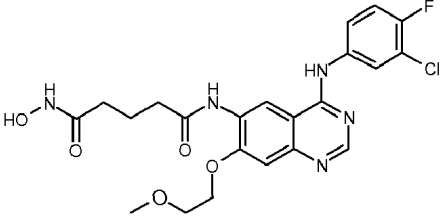
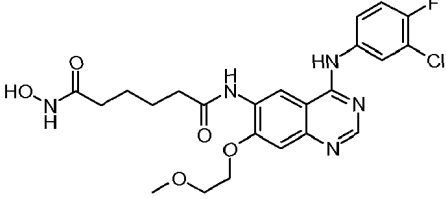
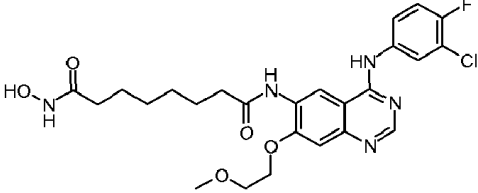


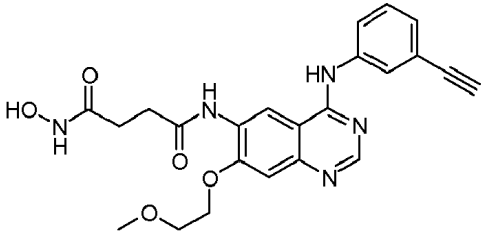
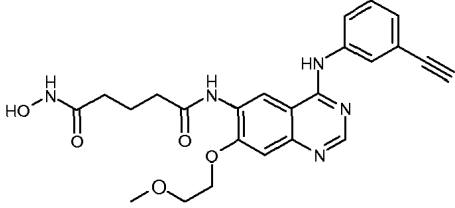
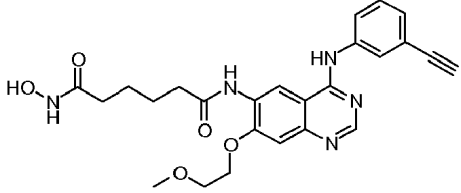
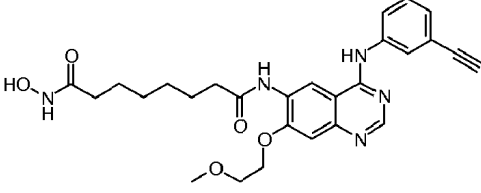
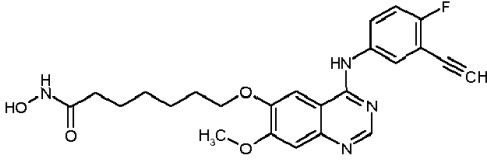
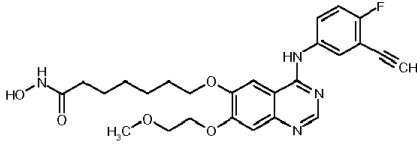
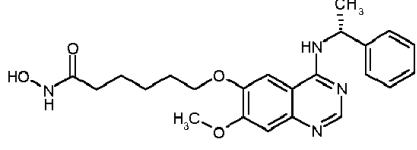
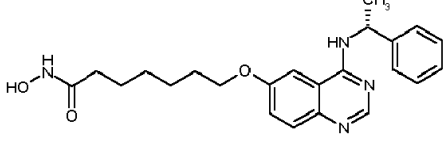
Compuesto N°	Estructura
32	 <chem>COCCOC1=CC=C2N=CN=C(C2=O)C1OCC(=O)N</chem>
33	 <chem>COCCOC1=CC=C2N=CN=C(C2=O)C1OCCC(=O)N</chem>
34	 <chem>COCCOC1=CC=C2N=CN=C(C2=O)C1OCCCC(=O)N</chem>
35	 <chem>COCCOC1=CC=C2N=CN=C(C2=O)C1OCCCCCC(=O)N</chem>
36	 <chem>COCCOC1=CC=C2N=CN=C(C2=O)C1OCCCCCCC(=O)N</chem>
37	 <chem>COc1c2ncnc2c(=O)[nH]1NC(=O)CC(=O)N</chem>
38	 <chem>COc1c2ncnc2c(=O)[nH]1NC(=O)CCCC(=O)N</chem>
39	 <chem>COc1c2ncnc2c(=O)[nH]1NC(=O)CCCCC(=O)N</chem>

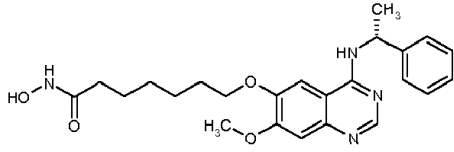
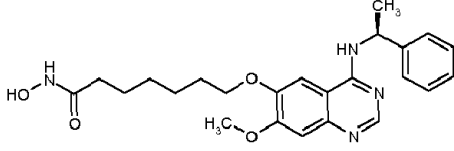
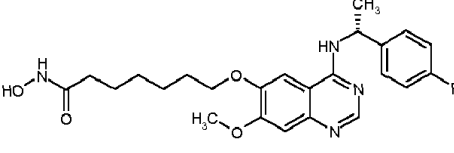
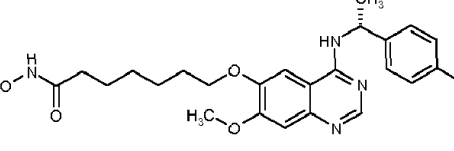
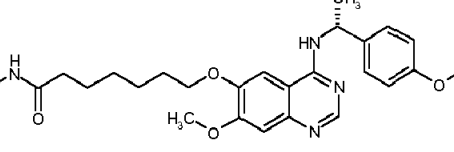
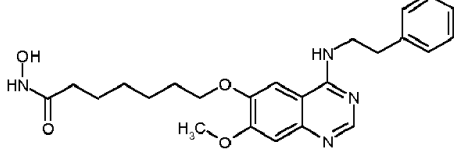
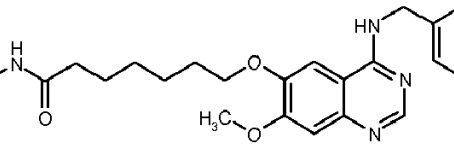
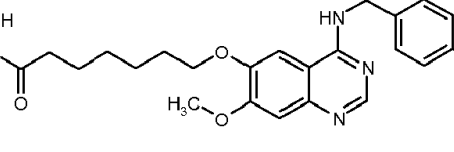
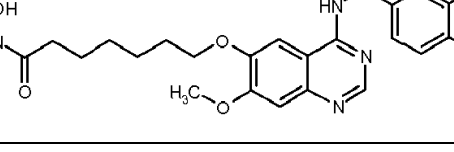
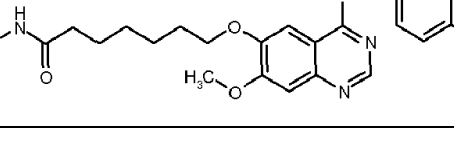
Compuesto N°	Estructura
40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	

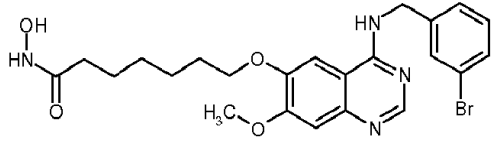
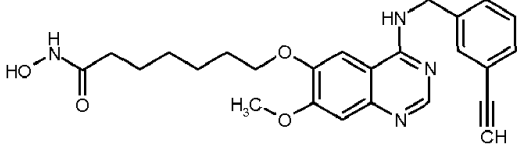
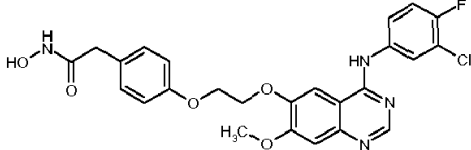
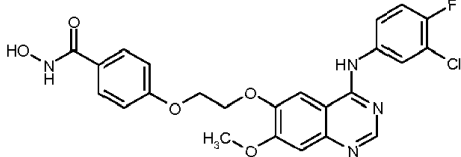
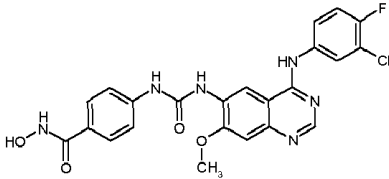
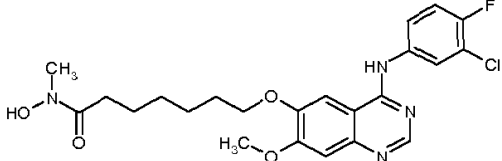
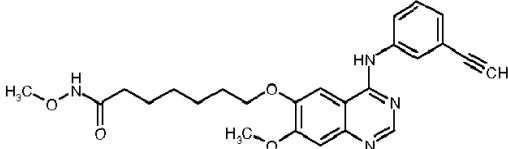
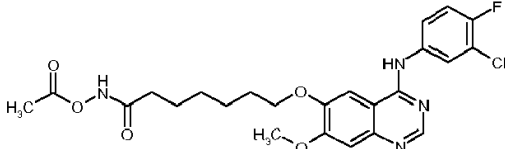
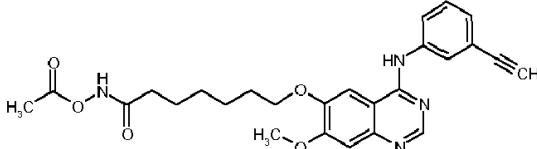
Compuesto N°	Estructura
48	
49	
50	
51	
52	
53	
54	
55	

Compuesto N°	Estructura
56	
57	
58	
59	
60	
61	
62	
63	

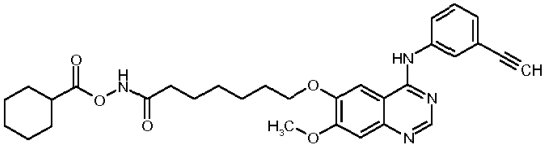
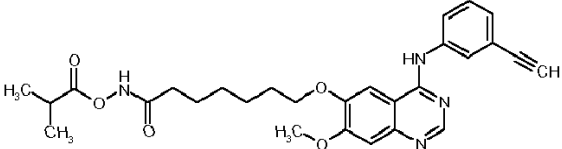
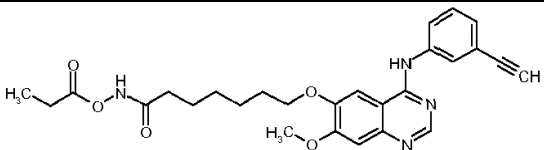
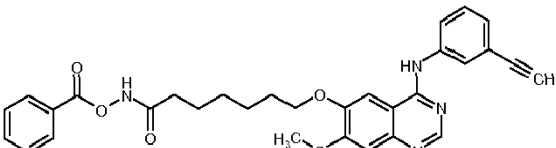
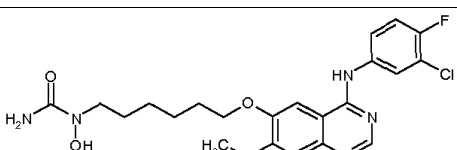
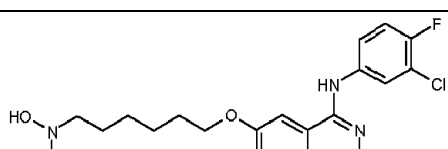
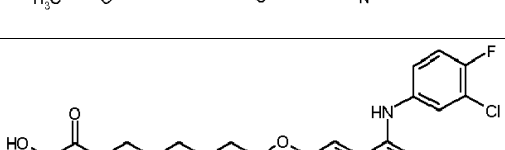
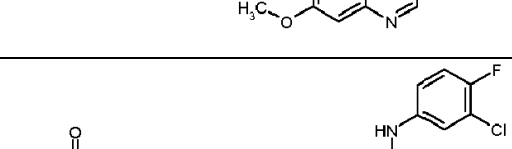
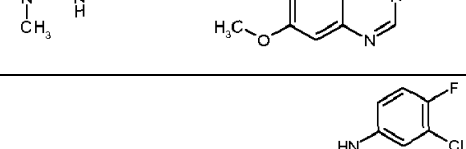
Compuesto N°	Estructura
64	
65	
66	
67	
68	
69	
70	

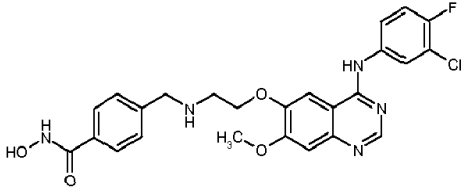
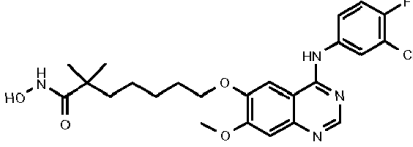
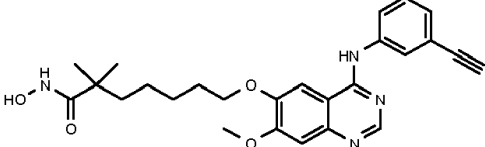
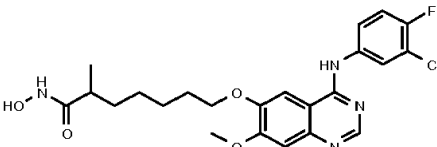
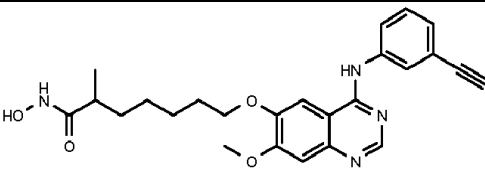
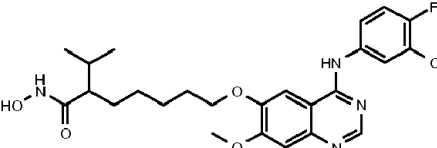
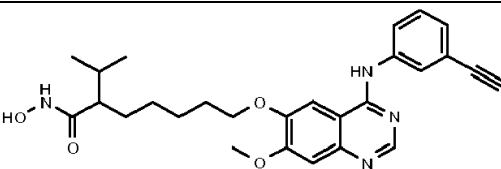
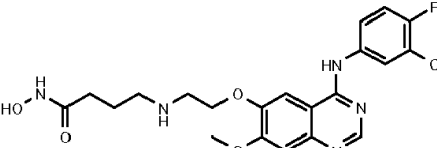
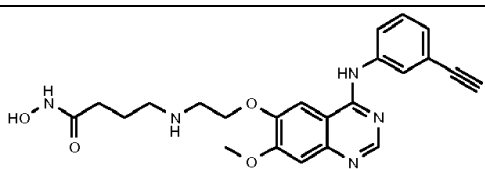
Compuesto N°	Estructura
71	
72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	

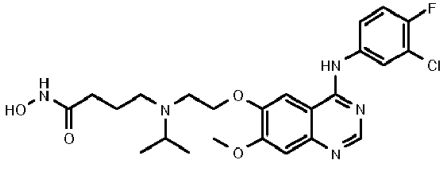
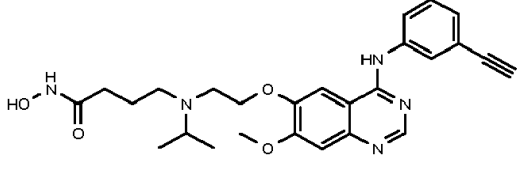
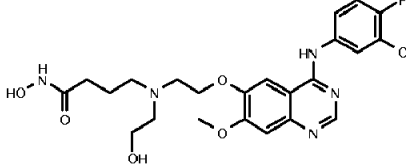
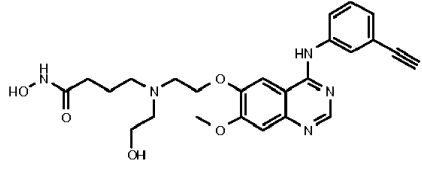
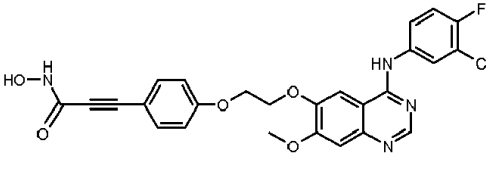
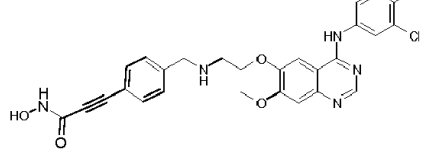
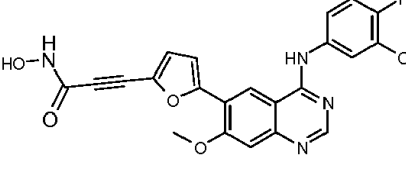
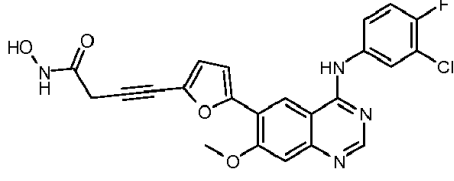
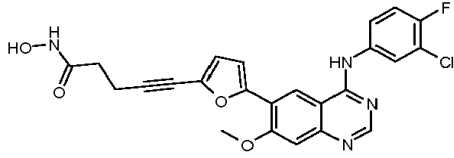
Compuesto N°	Estructura
79	
80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
88	

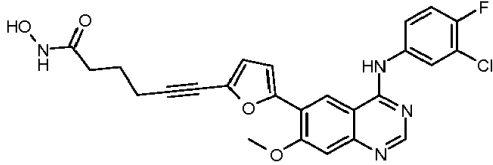
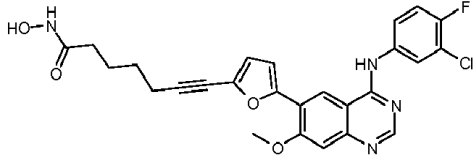
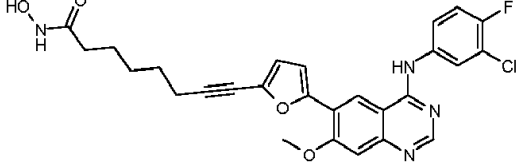
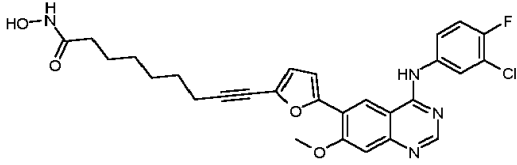
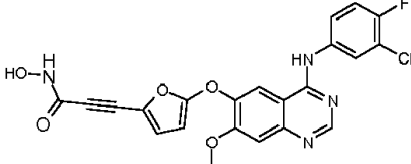
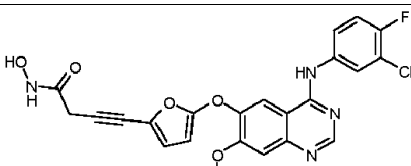
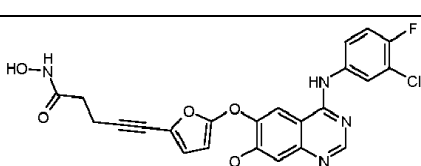
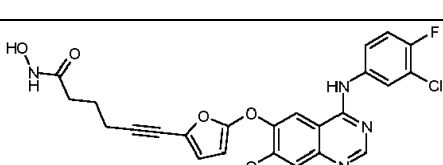
Compuesto N°	Estructura
89	
90	
91	
92	
93	
94	
95	
96	
97	

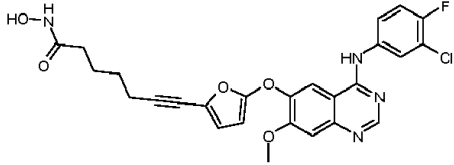
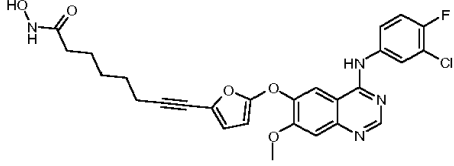
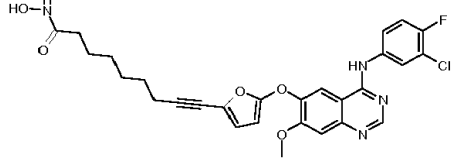
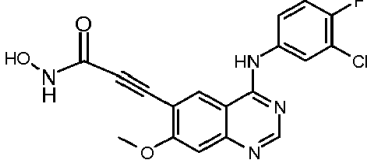
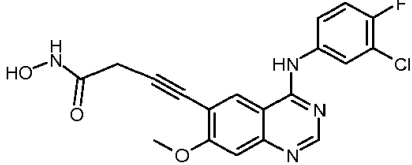
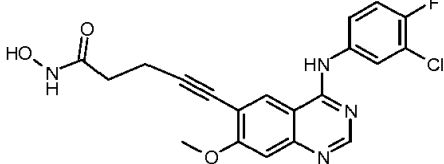
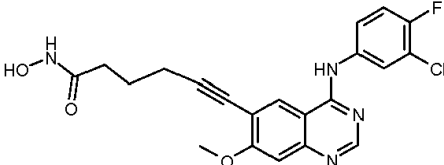
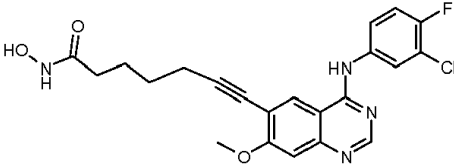


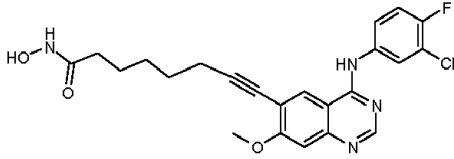
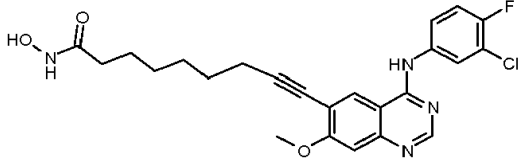
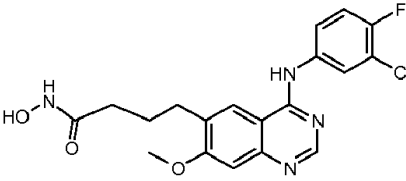
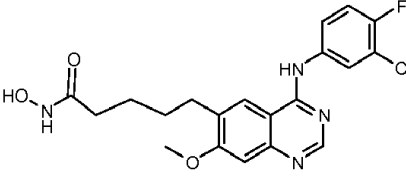
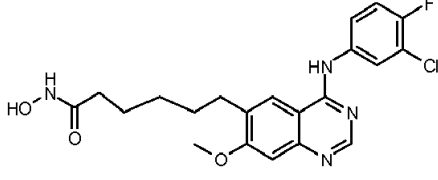
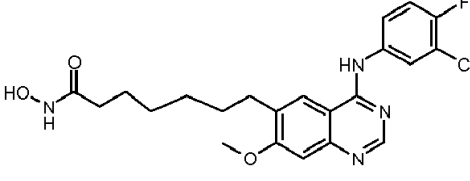
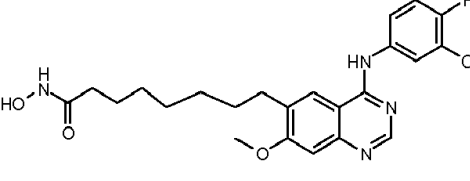
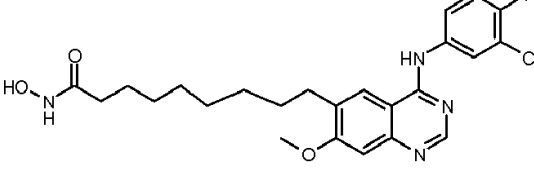
Compuesto N°	Estructura
98	
99	
100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	

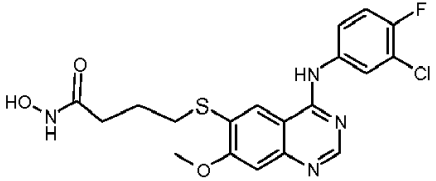
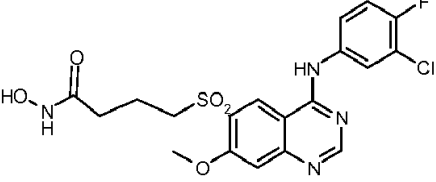
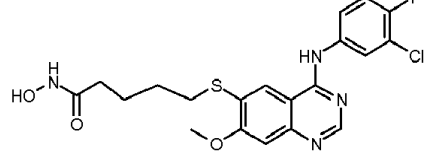
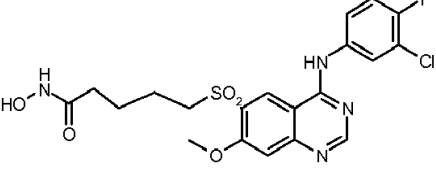
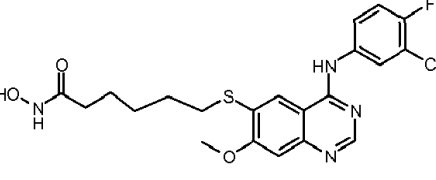
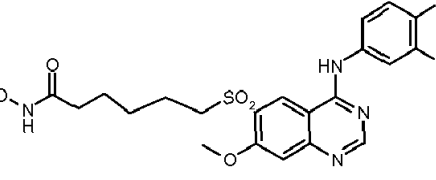
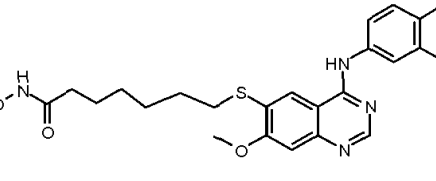
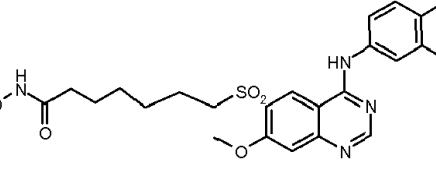
Compuesto N°	Estructura
107	
108	
109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	

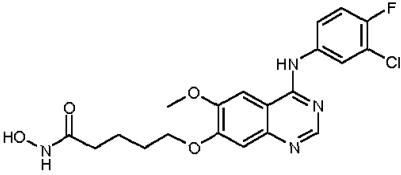
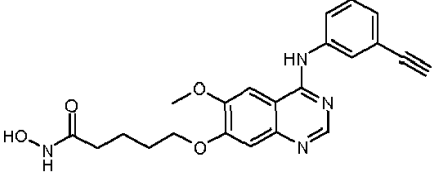
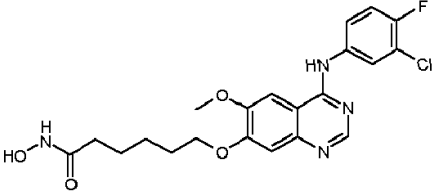
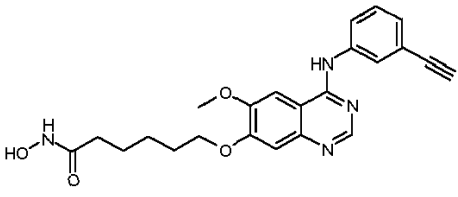
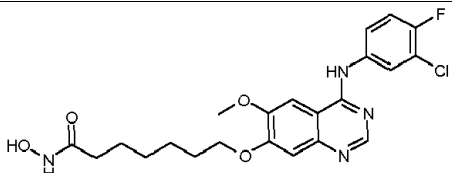
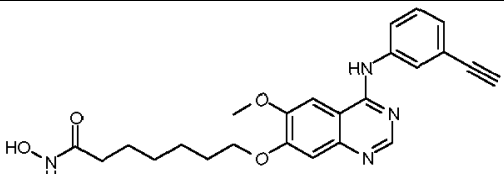
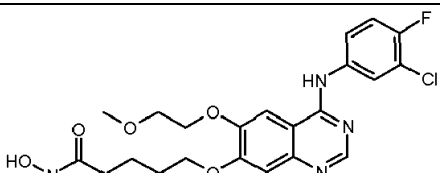
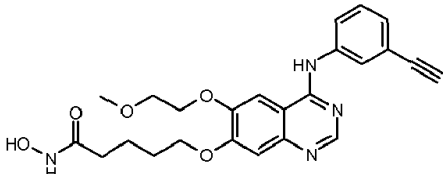
Compuesto N°	Estructura
116	
117	
118	
119	
120	
12 <sup>1</sup>	
122	
123	
124	

Compuesto N°	Estructura
125	
126	
127	
128	
129	
130	
131	
132	

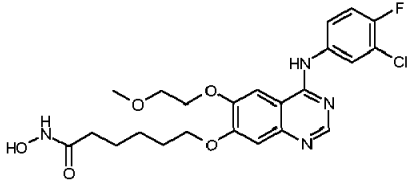
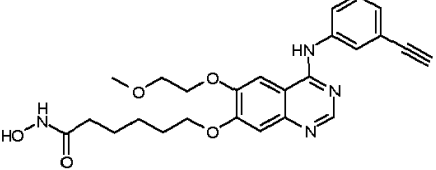
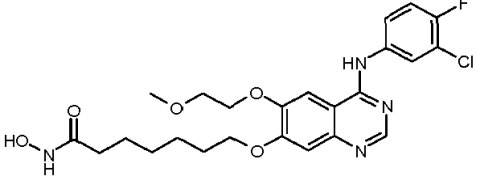
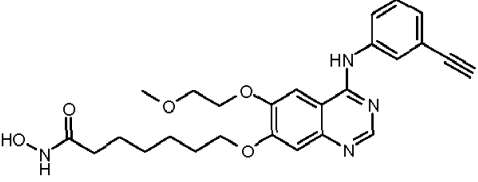
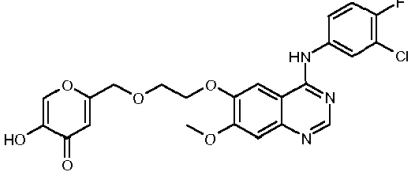
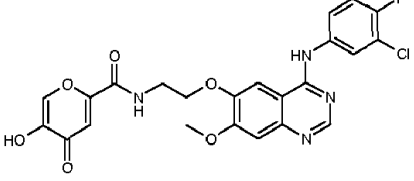
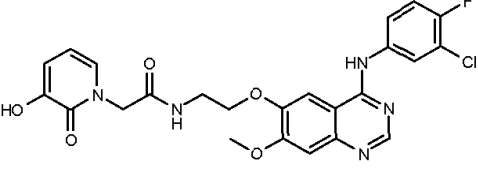
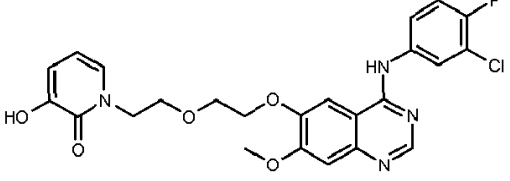
Compuesto N°	Estructura
133	
134	
135	
136	
137	
138	
139	
140	

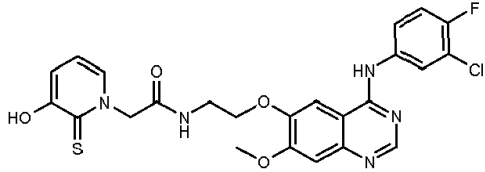
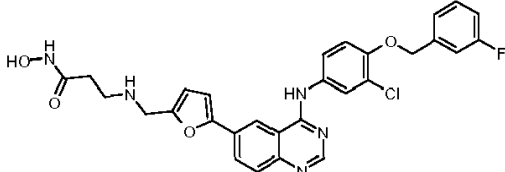
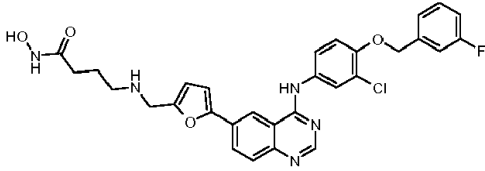
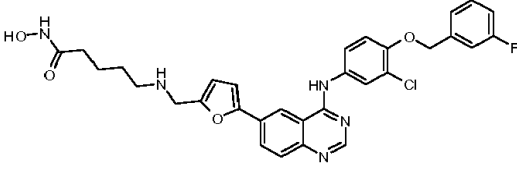
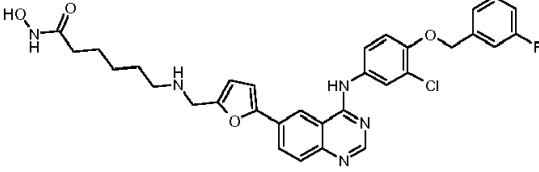
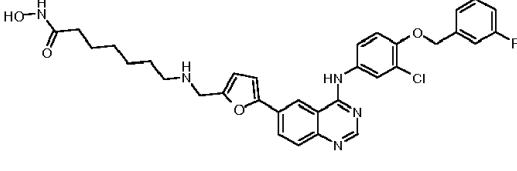
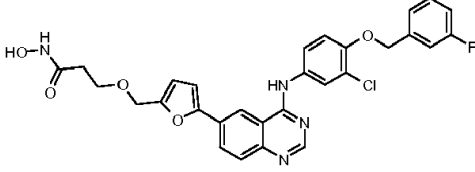
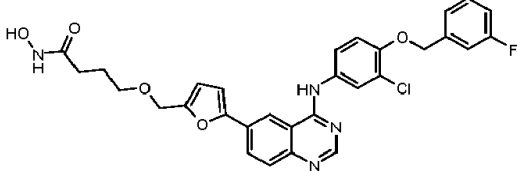
Compuesto N°	Estructura
141	
142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	

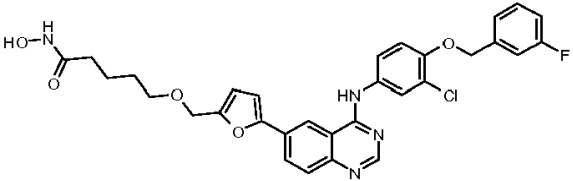
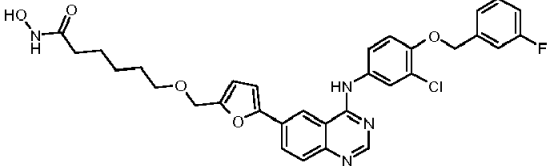
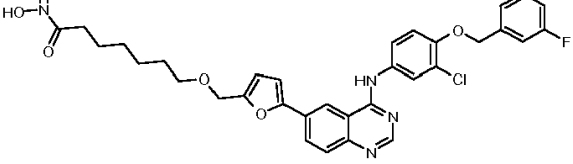
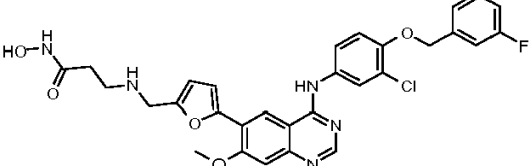
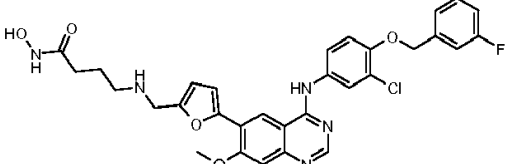
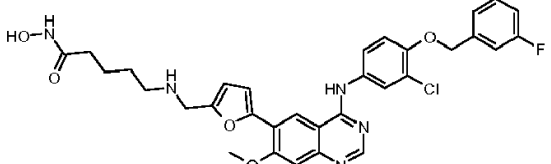
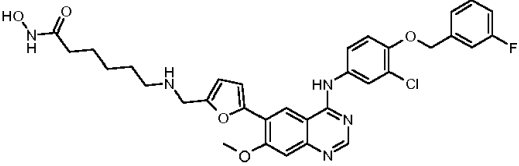
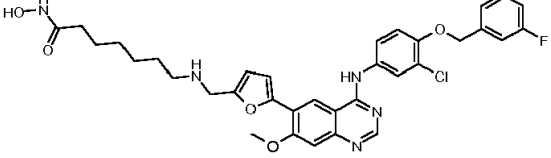
Compuesto N°	Estructura
149	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1SCCCC(=O)NO</chem>
150	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1S(=O)(=O)CCC(=O)NO</chem>
151	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1SCCCCC(=O)NO</chem>
152	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1S(=O)(=O)CCCC(=O)NO</chem>
153	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1SCCCCCC(=O)NO</chem>
154	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1S(=O)(=O)CCCCC(=O)NO</chem>
155	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1SCCCCCCC(=O)NO</chem>
156	 <chem>COc1nc2nc(NC3=CC=C(C=C3)C(F)=CCl)nc2n1S(=O)(=O)CCCCCC(=O)NO</chem>

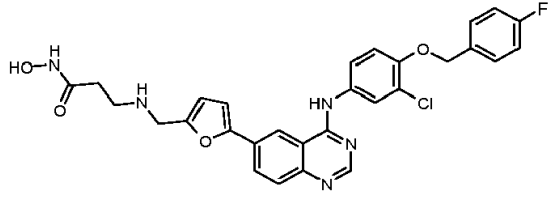
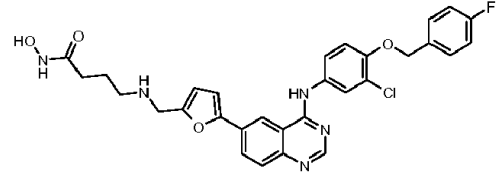
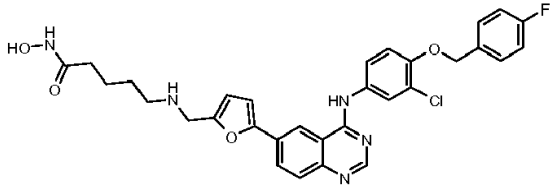
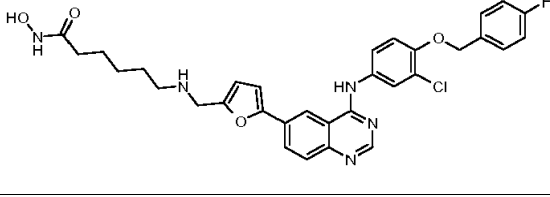
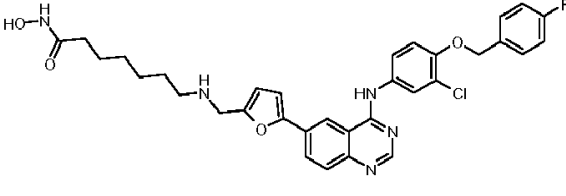
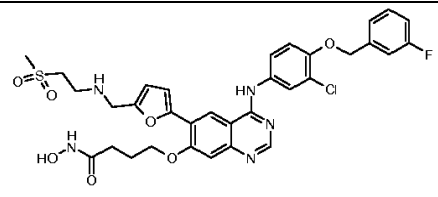
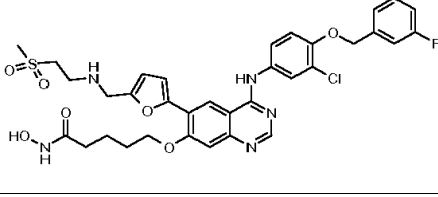
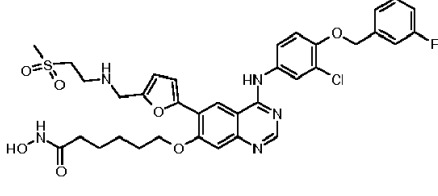
Compuesto N°	Estructura
157	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(Cl)c(F)c3)OC(=O)CCCCC1=O</chem>
158	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(C#C)cc3)OC(=O)CCCCC1=O</chem>
159	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(Cl)c(F)c3)OCCCCC(=O)N</chem>
160	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(C#C)cc3)OCCCCC(=O)N</chem>
161	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(Cl)c(F)c3)OCCCCC(=O)N</chem>
162	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(C#C)cc3)OCCCCC(=O)N</chem>
163	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(Cl)c(F)c3)OC(=O)CCCCC1=O</chem>
164	 <chem>COc1nc2c(ncn2Nc3ccc(C#C)cc3)OC(=O)CCCCC1=O</chem>

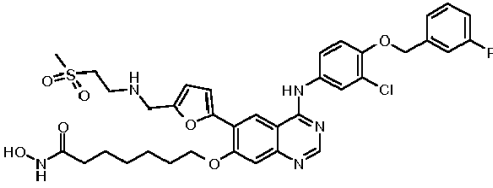
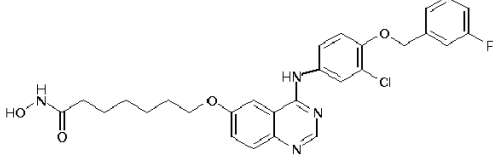
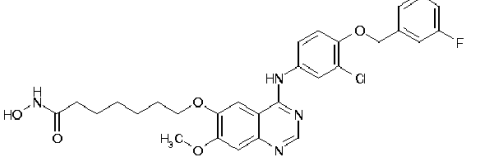
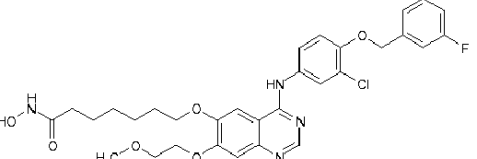
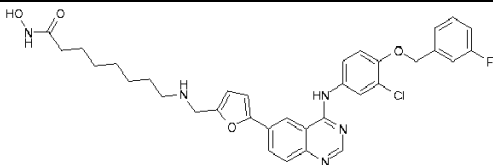
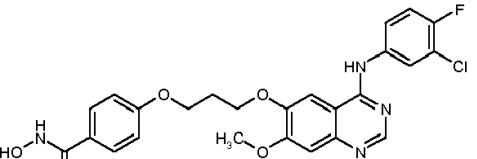
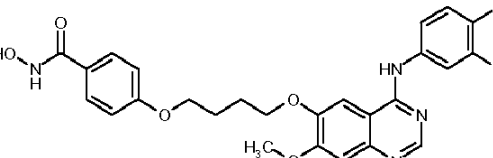
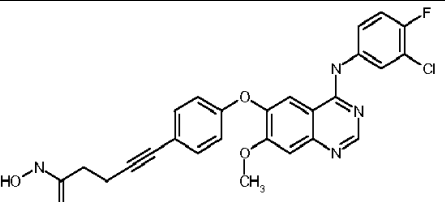


Compuesto N°	Estructura
165	
166	
167	
168	
169	
170	
171	
172	

Compuesto N°	Estructura
173	
174	
175	
176	
177	
178	
179	
180	

Compuesto N°	Estructura
181	
182	
183	
184	
185	
186	
187	
188	

Compuesto N°	Estructura
189	
190	
191	
192	
193	
194	
195	
196	

Compuesto N°	Estructura
197	
198	
199	
200	
201	
202	
203	
204	

Compuesto N°	Estructura
205	
206	
207	
208	
209	
210	
211	
212	

La composición farmacéutica puede ser una formulación líquida. En aún otra realización, la composición farmacéutica es una formulación acuosa, tal como una emulsión. En aún otra realización, la formulación líquida es una formulación parenteral. En aún otra realización, la formulación es una formulación intravenosa.

5 En una realización adicional, la composición es una formulación seca. Tales formulaciones se pueden preparar por métodos conocidos, que incluyen, por ejemplo, liofilización, secado por rociado y/o extracción fluida supercrítica. Estos concentrados sólidos se pueden reconstituir después en el momento de o poco antes de la administración a un paciente.

10 La composición comprende una ciclodextrina. Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de dextrosa con una estructura de cono truncado que consiste en un exterior hidrófilo y una cavidad interior hidrófoba. Una ciclodextrina puede formar un complejo de inclusión con una molécula huésped por complejación con todo o una parte de una molécula huésped hidrófoba dentro de su cavidad (por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. N° 4.727.064, los contenidos de la cual se incorporan en la presente memoria por referencia). El tamaño de la cavidad es determinado por el número de unidades glucopiranosas en la ciclodextrina. Las ciclodextrinas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) y gamma ( $\gamma$ ) son las ciclodextrinas más comunes, y poseen seis, siete y ocho unidades glucopiranosas, respectivamente. Debido a que las ciclodextrinas naturales tienen una solubilidad en agua relativamente baja y están asociadas con toxicidad, se han desarrollado derivados de ciclodextrina modificados químicamente para vencer estas limitaciones. Tales derivados de ciclodextrina poseen típicamente una modificación química en uno o más de los grupos hidroxilo de las posiciones 2, 3 o 6. Se han descrito derivados de ciclodextrina, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. Nos. 5.134.127, 5.376.645, 5.571.534, 5.874.418, 6.046.177 y 6.133.248, los contenidos de las cuales se incorporan en la presente memoria por referencia y se hacen una parte de la misma. Como se emplea en la presente memoria, los términos "ciclodextrina", " $\alpha$ -ciclodextrina", " $\beta$ -ciclodextrina" y " $\gamma$ -ciclodextrina" pretenden abarcar ciclodextrinas no modificadas así como derivados químicamente modificados de las mismas.

25 En una realización, la ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en  $\alpha$ -ciclodextrina o un derivado de la misma,  $\beta$ -ciclodextrina o un derivado de la misma y una  $\gamma$ -ciclodextrina o un derivado de la misma. En aún otra realización, la ciclodextrina es una  $\beta$ -ciclodextrina o un derivado o una  $\gamma$ -ciclodextrina o un derivado de la misma. En una realización adicional, la ciclodextrina es una  $\beta$ -ciclodextrina o un derivado de la misma. En una realización adicional, la ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en una 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (Pitha et al, J Pharm Sci, 84 (8), 927-32 (1995)) y  $\beta$ -ciclodextrina derivada con sulfobutilo (descrita, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. Nos. 5.134.127; 5.376.645; 5.874.418; 6.046.177; y 6.133.248). En otra realización, la ciclodextrina es una  $\beta$ -ciclodextrina derivada con sulfobutilo. Una  $\beta$ -ciclodextrina derivada con sulfobutilo tal es sulfobutileter-7- $\beta$ -ciclodextrina, y es comercializada por CyDex, Inc. bajo el nombre comercial CAPTISOL®. En aún otra realización de la invención, la ciclodextrina es sulfobutileter-7- $\beta$ -ciclodextrina.

35 La ciclodextrina puede ser incluida en una cantidad que aumente la solubilidad del compuesto activo en la composición. En una realización, la cantidad de ciclodextrina incluida dentro de la composición es la cantidad mínima necesitada para solubilizar el fármaco en la composición. En aún otra realización, la cantidad de ciclodextrina incluida dentro de la composición está dentro de aproximadamente 5% de la cantidad mínima necesitada para solubilizar el fármaco. En una realización adicional, la composición es una formulación parenteral y la cantidad de ciclodextrina incluida dentro de la formulación es la cantidad mínima de ciclodextrina necesitada para solubilizar el fármaco. A fin de determinar la cantidad mínima de ciclodextrina necesitada para solubilizar un compuesto abarcado por las Fórmulas II-IV, se puede llevar a cabo una representación gráfica de la solubilidad de los compuestos frente a la concentración de ciclodextrina. Interpolando o extrapolando a partir de la representación gráfica, se puede preparar una composición que contenga la cantidad mínima de ciclodextrina necesitada para disolver la concentración deseada del compuesto activo.

45 En una realización, la composición comprende al menos aproximadamente 0,5 o 1% (peso/volumen) de una ciclodextrina. En otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 5% de una ciclodextrina. En aún otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 15% de una ciclodextrina. En una realización adicional, la composición comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 50% de una ciclodextrina. En aún otra realización, la composición comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 40% de una ciclodextrina. En otra realización, la composición comprende aproximadamente 0,5% a aproximadamente 35% de una ciclodextrina. En aún otra realización, la composición comprende aproximadamente 30% de una ciclodextrina.

50 En otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 0,5 o 1% (peso/volumen) de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 5% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En aún otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 15% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En una realización adicional, la composición comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 50% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En aún otra realización, la composición comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 40% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En otra realización, la composición comprende aproximadamente 0,5% a aproximadamente 35% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo. En aún otra realización, la composición comprende aproximadamente 30% de una  $\beta$ -ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo.

- En una realización, la composición comprende al menos aproximadamente 0,5 o 1% (peso/volumen) de CAPTISOL. En otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 5% de CAPTISOL. En aún otra realización, la composición comprende al menos aproximadamente 15% de CAPTISOL. En una realización adicional, la composición comprende de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50% de CAPTISOL. En aún otra realización, la composición comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 40% de CAPTISOL. En otra realización, la composición comprende aproximadamente 0,5% a aproximadamente 35% de CAPTISOL. En aún otra realización, la composición comprende aproximadamente 30% de CAPTISOL.
- En una realización adicional, la composición comprende además uno o más ácidos o bases. En una realización, el ácido o base se añade en una cantidad de 0,5 a 1,5 equivalentes mol, preferiblemente 1 a 1,3 equivalentes mol para formular el compuesto. Los ácidos que se pueden incluir en la composición incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico, preferiblemente ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácido L(-)-málico y ácido L(+)-tartárico, preferiblemente ácido L(+)-tartárico. Los ejemplos de bases que se pueden incluir en la composición incluyen hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, preferiblemente hidróxido de sodio.
- En una realización adicional, la composición comprende dextrano. En aún otra realización, la composición comprende dextrano en una cantidad de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% peso/volumen de dextrano. En una realización adicional, la composición comprende de aproximadamente 2 a aproximadamente 4% peso/volumen de dextrano.
- La invención proporciona además las composiciones para uso en la prevención o tratamiento de enfermedades o afecciones que implican proliferación aberrante, diferenciación o supervivencia de células. En una realización, la invención proporciona el uso de la composición de la invención en la fabricación de un medicamento para detener o disminuir enfermedades que implican proliferación aberrante, diferenciación o supervivencia de células. En realizaciones preferidas, la enfermedad es cáncer. En una realización, la invención se refiere a una composición de la invención para uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto necesitado de tratamiento, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de la invención.
- El término "cáncer" se refiere a cualquier cáncer causado por la proliferación de células neoplásicas malignas, tales como tumores, neoplasmas, carcinomas, sarcomas, leucemias, linfomas y similares. Por ejemplo, los cánceres incluyen, pero no se limitan a, mesotelioma, leucemias y linfomas tales como linfomas de linfocitos T cutáneos (CTCL), linfomas de linfocitos T periféricos no cutáneos, linfomas asociados con el virus linfotrófico de linfocitos humanos (HTLV) tales como leucemia/linfoma de linfocitos T adultos (ATLL), linfoma de linfocitos B, leucemias no linfocíticas agudas, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, leucemia mielógena aguda, linfomas, y mieloma múltiple, linfoma no de Hodgkin, leucemia linfática aguda (ALL), leucemia linfática crónica (CLL), linfoma de Hodgkin, linfoma de Burkitt, leucemia linfoma de linfocitos T adultos, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), o carcinoma hepatocelular. Ejemplos adicionales incluyen síndrome mielodisplásico, tumores sólidos de la infancia tales como tumores cerebrales, neuroblastoma, retinoblastoma, tumor de Wilms, tumores óseos, y sarcomas de tejidos blandos, tumores sólidos comunes de adultos tales como cánceres de cabeza y cuello (p.ej., oral, laríngeo, nasofaríngeo y esofágico), cánceres genitourinarios (p.ej., próstata, vejiga, renal, uterino, ovárico, testicular), cáncer de pulmón (p.ej., de células pequeñas y no pequeñas), cáncer de mama, cáncer pancreático, melanoma y otros cánceres de piel, cáncer de estómago, tumores cerebrales, tumores relacionados con el síndrome de Gorlin (p.ej., meduloblastoma, meningioma, etc.), y cáncer de hígado. Formas ilustrativas adicionales de cáncer que se pueden tratar mediante los presentes compuestos incluyen, pero no se limitan a, cáncer de músculo esquelético o liso, cáncer de estómago, cáncer del intestino delgado, carcinoma de recto, cáncer de la glándula salival, cáncer endometrial, cáncer adrenal, cáncer anal, cáncer rectal, cáncer de paratiroides, y cáncer de pituitaria.
- Cánceres adicionales que las sales o complejos descritos en la presente memoria pueden ser útiles en prevenir, tratar y estudiar son, por ejemplo, carcinoma de colon, carcinoma de poliposis adenomatosa familiar y cáncer colorrectal no de poliposis hereditario, o melanoma. Además, los cánceres incluyen, pero no se limitan a, carcinoma labial, carcinoma de laringe, carcinoma de hipofaringe, carcinoma de lengua, carcinoma de las glándulas salivales, carcinoma gástrico, adenocarcinoma, cáncer de tiroides, carcinoma de tiroides medular y papilar, carcinoma renal, carcinoma del parénquima renal, carcinoma de cérvix, carcinoma del cuerpo uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma del corión, carcinoma de testículo, carcinoma urinario, melanoma, tumores cerebrales tales como glioblastoma, astrocitoma, meningioma, meduloblastoma y tumores neuroectodérmicos periféricos, carcinoma de la vesícula biliar, carcinoma bronquial, mieloma múltiple, basalioma, teratoma, retinoblastoma, melanoma coroideo, seminoma, rabdomiosarcoma, craneofaringeoma, osteosarcoma, condrosarcoma, miosarcoma, liposarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Ewing, y plasmocitoma. En un aspecto de la invención, la presente invención proporciona el uso de uno o más compuestos de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- En una realización, la presente invención incluye el uso de una o más sales o complejos de la invención en la composición farmacéutica en la fabricación de un medicamento que previene además la proliferación aberrante, diferenciación o supervivencia de células. Por ejemplo, las sales o complejos de la invención pueden ser útiles en impedir que los tumores aumenten de tamaño o alcancen un estado metastásico. La composición puede ser



administrada para detener la progresión o avance del cáncer o para inducir la apoptosis del tumor o inhibir la angiogénesis del tumor. Además, la presente invención incluye el uso de los presentes compuestos para prevenir una recurrencia del cáncer.

5 Esta invención abarca además el tratamiento o prevención de trastornos proliferativos celulares tales como hiperplasias, displasias y lesiones precancerosas. La displasia es la forma más temprana de lesión precancerosa reconocible en una biopsia por un patólogo. Las presentes sales o complejos pueden ser administrados con el fin de impedir que dichas hiperplasias, displasias o lesiones precancerosas continúen expandiéndose o se vuelvan cancerosas. Ejemplos de lesiones precancerosas pueden aparecer en la piel, tejido esofágico, mama y tejido intratleal cervical.

10 "Terapia de combinación" incluye la administración de las presentes sales o complejos en combinación además con otros ingredientes biológicamente activos (tales como, pero no limitados a, un segundo y diferente agente antineoplásico) y terapias no de fármacos (tales como, pero no limitadas a, cirugía o tratamiento con radiación). Por ejemplo, las sales o complejos de la invención se pueden usar en combinación con otros compuestos farmacológicamente activos, preferiblemente compuestos que pueden potenciar el efecto de los compuestos de la invención. Las sales o complejos de la invención se pueden administrar simultáneamente (como una única preparación o preparación independiente) o secuencialmente a la terapia del otro fármaco. En general, una terapia de combinación concibe la administración de dos o más fármacos durante un único ciclo o curso de terapia.

En un aspecto de la invención, las presentes sales o complejos se pueden administrar en combinación con uno o más agentes independientes que modulan proteína cinasas implicadas en diversos estados de enfermedad. Ejemplos de tales cinasas pueden incluir, pero no se limitan a: cinasas específicas a serina/treonina, cinasas específicas a tirosina de receptor y cinasas específicas a tirosina no de receptor. Las cinasas de serina/treonina incluyen proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK), cinasa específica de la meiosis (MEK), RAF y cinasa aurora. Los ejemplos de familias de cinasas de receptor incluyen receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (p.ej. HER2/neu, HER3, HER4, ErbB, ErbB2, ErbB3, ErbB4, Xmrk, DER, Let23); receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) (p.ej. FGF-R1, GFF-R2/BEK/CEK3, FGF-R3/CEK2, FGF-R4/TKF, KGF-R); receptor del factor de crecimiento/dispersión de hepatocitos (HGFR) (p.ej., MET, RON, SEA, SEX); receptor de insulina (p.ej. IGF1-R); Eph (p.ej. CEK5, CEK8, EBK, ECK, EEK, EHK-1, EHK-2, ELK, EPH, ERK, HEK, MDK2, MDK5, SEK); Axl (p.ej. Mer/Nyk, Rse); RET; y receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR) (p.ej. PDGF $\alpha$ -R, PDGF $\beta$ -R, CSF1-R/FMS, SCF-R/C-KIT, VEGF-R/FLT, NEK/FLK1, FLT3/FLK2/STK-1). Las familias de tirosina cinasas no de receptor incluyen, pero no se limitan a, BCR-ABL (p.ej. p43<sup>abl</sup>, ARG); BTK (p.ej. ITK/EMT, TEC); CSK, FAK, FPS, JAK, SRC, BMX, FER, CDK y SYK.

En otro aspecto de la invención, las presentes sales o complejos se pueden administrar en combinación con uno o más agentes independientes que modulan dianas o procesos biológicos no de cinasas. Tales dianas incluyen histona desacetilasas (HDAC), ADN metiltransferasa (DNMT), proteínas de choque térmico (p.ej. HSP90), y proteosomas.

En una realización preferida, las presentes sales o complejos pueden ser combinados con agentes antineoplásicos (p.ej. moléculas pequeñas, anticuerpos monoclonales, ARN antisentido, y proteínas de fusión) que inhiben una o más dianas biológicas tales como Zolanza, Tarceva, Iressa, Tykerb, Gleevec, Sutent, Sprycel, Nexavar, Sorafinib, CNF204, RG108, BMS387032, Affinitak, Avastin, Herceptin, Erbitux, AG24322, PD325901, ZD6474, PD184322, Obatodax, ABT737 y AEE788. Tales combinaciones pueden potenciar la eficacia terapéutica sobre la eficacia conseguida por cualquiera de los agentes en solitario, y pueden impedir o retrasar la aparición de variantes mutacionales resistentes.

En ciertas realizaciones preferidas, las sales o complejos de la invención se administran en combinación con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos abarcan un amplio intervalo de tratamientos terapéuticos en el campo de la oncología. Estos agentes se administran en diversas fases de la enfermedad para los fines de encoger tumores, destruir células cancerosas remanentes que quedan después de cirugía, inducir remisión, mantener remisión y/o aliviar síntomas relacionados con el cáncer o su tratamiento. Ejemplos de tales agentes incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes tales como derivados del gas mostaza (Mecloretamina, cilofosfamida, clorambucil, melfalan, ifosfamida), etileniminas (tiotepa, hexametilmelanina), Alquilulfonatos (Busulfan), Hidrazinas y Triazinas (Altretamina, Procarbazona, Dacarbazina y Temozolomida), Nitrosoureas (Carmustina, Lomustina y Estreptozocina), Ifosfamida y sales metálicas (Carboplatino, Cisplatino, y Oxaliplatino); alcaloides vegetales tales como Podofilotoxinas (Etopósido y Tenipósido), Taxanos (Paclitaxel y Docetaxel), alcaloides de la Vinca (Vincristina, Vinblastina, Vindesina y Vinorelbina), y análogos de Camptotecan (Irinotecan y Topotecan); antibióticos antitumores tales como Cromomicinas (Dactinomicina y Plicamicina), Antraciclinas (Doxorubicina, Daunorubicina, Epirubicina, Mitoxantrona, Valrubicina e Idarubicina), y antibióticos misceláneos tales como Mitomicina, Actinomicina y Bleomicina; anti-metabolitos tales como antagonistas del ácido fólico (Metotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Aminopterina), antagonistas de pirimidina (5-Fluorouracilo, Floxuridina, Citarabina, Capecitabina, y Gemcitabina), antagonistas de purina (6-Mercaptopurina y 6-Tioguanina) e inhibidores de adenosina desaminasa (Cladribina, Fludarabina, Mercaptopurina, Clofarabina, Tioguanina, Nelarabina y Pentostatina); inhibidores de topoisomerasa tales como inhibidores de topoisomerasa I (Irinotecan, topotecan) e inhibidores de topoisomerasa II (Amsacrina, etopósido, etopósido fosfato, tenipósido); anticuerpos monoclonales (Alemtuzumab,

Gemtuzumab ozogamicina, Rituximab, Trastuzumab, Ibritumomab Tioxetan, Cetuximab, Panitumumab, Tositumomab, Bevacizumab); y antineoplásicos misceláneos tales como inhibidores de ribonucleótido reductasa (Hidroxiurea); inhibidor de esteroides adrenocorticales (Mitotano); enzimas (Asparaginasa y Pegaspargasa); agentes anti-microtúbulos (Estramustina); y retinoides (Bexaroteno, Isotretinoína, Tretinoína (ATRA).

- 5 En ciertas realizaciones preferidas, los compuestos de la invención se administran en combinación con un agente quimio protector. Los agentes quimio protectores actúan para proteger el cuerpo o minimizar los efectos secundarios de la quimioterapia. Ejemplos de tales agentes incluyen, pero no se limitan a, amfostina, mesna, y dexrazoxano.

10 En un aspecto de la invención, las presentes sales o complejos se administran en combinación con terapia de radiación. La radiación se suministra comúnmente de manera interna (implantación de material radioactivo cerca del sitio del cáncer) o de manera externa desde una máquina que emplea radiación de fotones (rayos x o rayos gamma) o partículas. Donde la terapia de combinación comprende además tratamiento de radiación, el tratamiento de radiación se puede realizar en cualquier momento adecuado, siempre y cuando se consiga un efecto beneficioso de la co-acción de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento de radiación. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso se consigue aún cuando el tratamiento de radiación es retirado temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizá por días o incluso semanas.

15 Se apreciará que las sales o complejos de la invención se pueden usar en combinación con un agente inmunoterapéutico. Una forma de inmunoterapia es la generación de una respuesta inmunitaria sistémica activa específica al tumor del huésped origin administrando una composición de vacuna en un sitio distante del tumor. Se han propuesto diversos tipos de vacunas, que incluyen vacunas de antígeno tumoral aisladas y vacunas anti-idiotipo. Otra estrategia es usar células tumorales del sujeto a ser tratado, o un derivado de tales células (revisado por Schirmmacher et al. (1995) J. Cancer Res. Clin. Oncol. 121:487). En la patente de EE.UU. N° 5.484.596, Hanna Jr. et al. reivindica un método para tratar un carcinoma reseccionable para impedir recurrencia o metástasis, que comprende retirar quirúrgicamente el tumor, dispersar las células con colagenasa, irradiar las células, y vacunar al paciente con al menos tres dosis consecutivas de aproximadamente  $10^7$  células.

25 Se apreciará que las sales o complejos de la invención se pueden usar ventajosamente en conjunción con uno o más agentes terapéuticos adjuntivos. Ejemplos de agentes adecuados para terapia adjuntiva incluyen un agonista de 5HT<sub>1</sub>, tal como un triptán (p.ej. sumatriptán o naratriptán); un agonista de adenosina A1; un ligando EP; un modulador de NMDA, tal como un antagonista de glicina; un bloqueante del canal del sodio (p.ej. lamotrigina); un antagonista de la sustancia P (p.ej. un antagonista de NK<sub>1</sub>); un cannabinoide; acetaminofeno o fenacetina; un inhibidor de 5-lipoxigenasa (p.ej., zileuton); un antagonista del receptor de leucotrieno (p.ej., montelukast o zafirlukast); un DMARD (p.ej. metotrexato); gabapentina y compuestos relacionados; un antidepresivo tricíclico (p.ej. amitriptilina); un fármaco antiépiléptico estabilizador de neuronas; un inhibidor de la absorción monoaminérgica (p.ej. venlafaxina); un inhibidor de metaloproteinasas matriciales; un inhibidor de la óxido nítrico sintasa (NOS), tal como un inhibidor de iNOS o nNOS; un inhibidor de la liberación, o acción, del factor alfa de necrosis tumoral; una terapia de anticuerpos, tal como una terapia de anticuerpos monoclonales; un agente antivírico, tal como un inhibidor de nucleósidos (p.ej. lamivudina) o un modulador del sistema inmunitario (p.ej. interferón); un analgésico opioide; un anestésico local; un estimulante, incluyendo cafeína; un antagonista de H<sub>2</sub> (p.ej. ranitidina); un inhibidor de la bomba de protones (p.ej. omeprazol); un antiácido (p.ej. hidróxido de aluminio o magnesio); un antiflatulento (p.ej. simeticona); un decongestionante (p.ej. fenilefrina, fenilpropanolamina, pseudoefedrina, oximetazolina, epinefrina, nafazolina, xilometazolina, propilhexedrina, o levo-desoxiefedrina); un antitusivo (p.ej. codeína, hidrocodona, carmifeno, carbetapentano, o dexametorfano); un diurético; o una antihistamina sedante o no sedante.

45 Las metaloproteinasas matriciales (MMPs) son una familia de endopeptidasas neutras dependientes del cinc capaces colectivamente de degradar esencialmente todos los componentes de la matriz. Están en desarrollo farmacéutico más de 20 agentes moduladores de MMP, casi la mitad de los cuales están indicados para el cáncer. Investigadores de la universidad de Toronto han reportado que las HDACs regulan la expresión y actividad de MMP en células 3T3. En particular, la inhibición de HDAC por tricostatina A (TSA), que ha mostrado impedir la tumorigénesis y metástasis, disminuye el mRNA así como la actividad zimográfica de la gelatinasa A (MMP2; colagenasa de Tipo IV), una metaloproteinasa matricial, que está por sí misma implicada en la tumorigénesis y metástasis (Ailenberg M., Silverman M., Biochem Biophys Res Commun. 2002, 298:110-115). Otro artículo reciente que discute la relación de HDAC y MMPs se puede encontrar en Young D.A., et al., Arthritis Research & Therapy, 2005, 7: 503. Además, lo común entre inhibidores de HDAC y MMPs es su funcionalidad de unión al cinc. Por lo tanto, en un aspecto de la invención, las sales o complejos de la invención se pueden usar como inhibidores de MMP y pueden ser de uso en el tratamiento de trastornos relacionados con o asociados con desregulación de MMP. Se sabe que la sobreexpresión y activación de MMPs induce destrucción de los tejidos, y también están asociadas con varias enfermedades específicas que incluyen artritis reumatoide, enfermedad periodontal, cáncer y aterosclerosis.

60 Las sales o complejos también se pueden usar en el tratamiento de un trastorno que implica, está relacionado con o asociado con desregulación de histona desacetilasa (HDAC). Hay varios trastornos que han sido implicados por o que se sabe que son mediados al menos en parte por la actividad de HDAC, donde se sabe que la actividad de HDAC juega un papel en el desencadenamiento del comienzo de la enfermedad, o cuyos síntomas se sabe o se ha mostrado que son aliviados por inhibidores de HDAC. Los trastornos de este tipo que se esperaría que son

5 susceptibles a tratamiento con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: trastornos antiproliferativos (p.ej. cánceres); enfermedades neurodegenerativas, que incluyen enfermedad de Huntington, enfermedad de poliglutamina, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsias, degeneración estriatonigral, parálisis supranuclear progresiva, distonía de torsión, tortícolis espasmódica y discinesias, temblor familiar, síndrome de Gilles de la Tourette, enfermedad difusa con cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, hemorragia intracerebral, esclerosis lateral primaria, atrofia muscular espinal, esclerosis lateral amiotrófica, polineuropatía intersticial hipertrófica, retinitis pigmentosa, atrofia óptica hereditaria, paraplejía espástica hereditaria, ataxia progresiva y síndrome de Shy-Drager; enfermedades metabólicas, que incluyen diabetes de Tipo 2; enfermedades degenerativas del ojo, que incluyen Glaucoma, degeneración macular asociada a la edad, glaucoma rubeótico; enfermedades inflamatorias y/o trastornos del sistema inmunitario, que incluyen artritis reumatoide (RA), osteoartritis inflamatoria, artritis crónica juvenil, enfermedad de Injerto frente a Huésped, psoriasis, asma, espondiloartropatía, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerosa, hepatitis alcohólica, pancreatitis, diabetes de Tipo 2, síndrome de Sjogrens, esclerosis múltiple, espondilitis anquilosante, glomerulopatía membranosa, dolor discogénico y lupus eritematoso sistémico; Enfermedad que implica angiogénesis, que incluye cáncer, psoriasis, artritis reumatoide; Trastornos psicológicos, que incluyen enfermedad bipolar, esquizofrenia, manía, depresión y demencia; Enfermedades cardiovasculares, que incluyen fallo cardíaco, restenosis y arterioesclerosis; Enfermedades fibróticas, que incluyen fibrosis de hígado, fibrosis quística y angiofibroma; enfermedades infecciosas, que incluyen infecciones fúngicas, tales como Candida Albicans, infecciones bacterianas, infecciones víricas, tales como Herpes Simple, infecciones protozoarias, tales como malaria, infección por Leishmania, infección por Trypanosoma brucei, toxoplasmosis y coccidiosis y trastornos hematopoyéticos, que incluyen talasemia, anemia y anemia de células falciformes.

25 En una realización, las sales o complejos de la invención se pueden usar para inducir o inhibir apoptosis, un proceso de muerte celular fisiológico crítico para el desarrollo normal y la homeostasis. Las alteraciones de las rutas apoptóticas contribuyen a la patogénesis de diversas enfermedades humanas. Las sales o complejos de la invención, como moduladores de la apoptosis, serán útiles en el tratamiento de diversas enfermedades humanas con aberraciones en la apoptosis, que incluyen cáncer (particularmente, pero no limitado a, linfomas foliculares, carcinomas con mutaciones de p53, tumores dependientes de hormonas de la mama, próstata y ovario, y lesiones precancerosas tales como poliposis adenomatosa familiar), infecciones víricas (que incluyen, pero no se limitan a, herpesvirus, poxvirus, virus de Epstein-Barr, virus de Sindbis y adenovirus), enfermedades autoinmunes (que incluyen, pero no se limitan a, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis mediada por el sistema inmunitario, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedades del intestino delgado, y diabetes mellitus autoinmune), trastornos neurodegenerativos (que incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, demencia relacionada con SIDA, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, retinitis pigmentosa, atrofia espinal muscular y degeneración cerebelar), SIDA, síndromes mielodisplásicos, anemia aplásica, lesión isquémica asociada con infartos de miocardio, apoplejía y lesión por reperfusión, arritmia, aterosclerosis, enfermedades del hígado inducidas por toxinas o inducidas por alcohol, enfermedades hematológicas (que incluyen, pero no se limitan a, anemia crónica y anemia aplásica), enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético (que incluyen, pero no se limitan a, osteoporosis y artritis), rinosinusitis sensible a la aspirina, fibrosis quística, esclerosis múltiple, enfermedades del riñón, y dolor por cáncer.

45 En un aspecto, la invención implica la composición para uso en el tratamiento y/o prevención de la respuesta inmune o respuestas mediadas por el sistema inmunitario y enfermedades, tal como la prevención o tratamiento del rechazo después del trasplante de materiales de injerto sintéticos u orgánicos, células, órganos o tejido para reemplazar todo o parte de la función de los tejidos, tales como corazón, riñón, hígado, médula ósea, piel, córnea, vasos, pulmón, páncreas, intestino, extremidad, músculo, tejido nervioso, duodeno, intestino delgado, células de islotes pancreáticos, incluyendo xeno-transplantes, etc.; tratar o prevenir la enfermedad de injerto frente a huésped, enfermedades autoinmunes, tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia gravis, uveítis por diabetes de tipo I, diabetes mellitus de comienzo juvenil o comienzo reciente, uveítis, enfermedad de Graves, psoriasis, dermatitis atópica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, vasculitis, enfermedades mediadas por auto-anticuerpos, anemia aplásica, síndrome de Evan, anemia hemolítica autoinmune, y similares; y además tratar enfermedades infecciosas que causan respuesta inmune y/o activación aberrante, tales como desregulación inmune inducida de manera traumática o patógena, que incluyen por ejemplo, las que son causadas por infecciones de hepatitis B y C, HIV, infección por estafilococcus aureus, encefalitis vírica, sepsis, enfermedades parasíticas en donde el daño está inducido por una respuesta inflamatoria (p.ej., leprosería); y para prevenir o tratar enfermedades circulatorias, tales como arteriosclerosis, aterosclerosis, vasculitis, poliarteritis nodosa y miocarditis. Además, la presente invención se puede usar para impedir/suprimir una respuesta inmune asociada con un tratamiento con terapia de genes, tal como la introducción de genes extraños en células autólogas y expresión del producto codificado. Así, en una realización, la invención se refiere a un método para tratar una enfermedad o trastorno de respuesta inmune o una respuesta o trastorno mediados por respuesta inmune en un sujeto necesitado de tratamiento, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención.

En un aspecto, la invención implica el uso de la composición en el tratamiento de diversas enfermedades neurodegenerativas, una lista no exhaustiva de las cuales incluye: I. Trastornos caracterizados por demencia

progresiva en ausencia de otros signos neurológicos prominentes, tales como enfermedad de Alzheimer; Demencia senil de tipo Alzheimer; y enfermedad de Pick (atrofia lobular); II. Síndromes que combinan demencia progresiva con otras anomalías neurológicas prominentes tales como A) síndromes que aparecen principalmente en adultos (p.ej., enfermedad de Huntington, atrofia sistémica múltiple que combina demencia con ataxia y/o manifestaciones de la enfermedad de Parkinson, parálisis supranuclear progresiva (Steel-Richardson-Olszewski), enfermedad difusa con cuerpos de Lewy, y degeneración corticodentatonigral); y B) síndromes que aparecen principalmente en niños o adultos jóvenes (p.ej., enfermedad de Hallervorden-Spatz y epilepsia mioclónica familiar progresiva); III. Síndromes de anomalías de desarrollo gradual de la postura y el movimiento, tales como parálisis agitans (enfermedad de Parkinson), degeneración estriatonigral, parálisis supranuclear progresiva, distonía de torsión (espasmo de torsión; distonía musculorum deformans), tortícolis espasmódica y otras discinesias, temblor familiar, y síndrome de Gilles de la Tourette; IV. Síndromes de ataxia progresiva tales como degeneraciones cerebelares (p.ej., degeneración cortical cerebelar y atrofia olivopontocerebelar (OPCA)); y degeneración espinocerebelar (ataxia de Friedreich y trastornos relacionados); V. Síndrome del fallo del sistema nervioso autónomo central (síndrome de Shy-Drager); VI. Síndromes de debilidad muscular y cansancio sin cambios sensoriales (enfermedad motoneuronal tal como esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal (p.ej., atrofia muscular espinal infantil (Werdnig-Hoffman), atrofia muscular espinal juvenil (Wohlfart-Kugelberg-Welander) y otras formas de atrofia muscular espinal familiar), esclerosis lateral primaria, y paraplejía espástica hereditaria; VII. Síndromes que combinan debilidad muscular y cansancio con cambios sensoriales (atrofia muscular neural progresiva; polineuropatías familiares crónicas) tales como atrofia muscular peroneal (Charcot-Marie-Tooth), polineuropatía intersticial hipertrófica (Dejerine-Sottas), y formas misceláneas de neuropatía progresiva crónica; VIII. Síndromes de pérdida visual progresiva tales como degeneración pigmentaria de la retina (retinitis pigmentosa), y atrofia óptica hereditaria (enfermedad de Leber). Además, las sales o complejos de la invención pueden estar implicados en la remodelación de la cromatina.

La invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de tartrato de o complejo con la invención descrita anteriormente y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz cuando se trata el cáncer es una cantidad eficaz para inducir selectivamente la diferenciación terminal de células neoplásicas adecuadas y menos que una cantidad que causa toxicidad en un paciente. La invención también abarca composiciones farmacéuticas que comprenden solvatos o hidratos de las sales o complejos de la invención.

La formulación ácido/complejo y/o sales de la invención se puede administrar por cualquier medio adecuado, que incluye, sin limitación, administraciones parenterales, intravenosas, intramusculares, subcutáneas, por implantación, orales, sublinguales, bucales, nasales, pulmonares, transdérmicas, tópicas, vaginales, rectales, y transmucosales o similares. La administración tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica, tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. Las preparaciones farmacéuticas incluyen una preparación sólida, semisólida o líquida (comprimido, gránulo, gragea, cápsula, supositorio, crema, pomada, aerosol, polvo, líquido, emulsión, suspensión, jarabe, inyección etc.) que contiene un compuesto de la invención como ingrediente activo, que es adecuado para el modo seleccionado de administración. En una realización, las composiciones farmacéuticas se administran de forma oral, y se formulan así en una forma adecuada para la administración oral, es decir, como una preparación sólida o líquida. Las formulaciones sólidas orales adecuadas incluyen comprimidos, cápsulas, píldoras, gránulos, pelets, bolsitas y polvos efervescentes, y similares. Formulaciones orales líquidas adecuadas incluyen disoluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones, aceites y similares. En una realización de la presente invención, la composición se formula en una cápsula. De acuerdo con esta realización, las composiciones de la presente invención comprenden además del compuesto activo y el vehículo o diluyente inerte, una cápsula de gelatina dura. En otra realización, la sal o composición farmacéutica inventiva se administra por vía parenteral. En una realización adicional, el compuesto o composición farmacéutica inventiva se administra por vía intravenosa.

Se puede usar cualquier excipiente inerte que se usa comúnmente como vehículo o diluyente en las formulaciones de la presente invención, tales como por ejemplo, una goma, un almidón, un azúcar, un material celulósico, un acrilato, o mezclas de los mismos. Un diluyente preferido es celulosa microcristalina. Las composiciones pueden comprender además un agente disgregante (p.ej., croscarmelosa de sodio) y un lubricante (p.ej., estearato de magnesio), y pueden comprender adicionalmente uno o más aditivos seleccionados de un aglutinante, un tampón, un inhibidor de proteasa, un tensioactivo, un agente solubilizador, un plastificante, un emulsionante, un agente estabilizador, un agente aumentador de la viscosidad, un edulcorante, un agente formador de película, o cualquier combinación de los mismos. Además, las composiciones de la presente invención pueden estar en la forma de formulaciones de liberación controlada o inmediata.

Para formulaciones líquidas, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser disoluciones acuosas o no acuosas, suspensiones, emulsiones o aceites. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, disoluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, que incluyen solución salina y medios tamponados. Ejemplos de aceites son aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de oliva, aceite de girasol y aceite de hígado de pescado. Donde se añade el aceite a una emulsión de la invención, el aceite se puede añadir en una cantidad entre 0 y 20% en peso de emulsión. Las emulsiones pueden comprender además uno o más fosfolípidos, que incluyen, pero no se limitan a, lecitinas, tales como lecitina de soja (p.ej., la comercializada bajo el nombre comercial Phospholipon 90G o Lipoid s-75 o s-90),

lecitina de huevo (p.ej., la comercializada bajo el nombre comercial Lipoid E-80), tal como en una cantidad entre aproximadamente 1 y 40%, p.ej. aproximadamente 20%, en peso de emulsión. Además o alternativamente, la emulsión puede comprender además un triglicérido, tal como un triglicérido de cadena media como los que se pueden adquirir bajo el nombre comercial Miglyol 812, tal como en una cantidad entre aproximadamente 1 y 20%, p.ej. 5, 5,5, 8,3 o 10%, en peso de emulsión. La emulsión puede contener adicionalmente un carbohidrato, tal como sacarosa, en tal como en una cantidad entre 0 y 40%, p.ej. 15-20%, en peso de emulsión. La emulsión puede contener adicionalmente un carbohidrato, tal como sacarosa, en tal como en una cantidad entre 0 y 40%, p.ej. 15-20%, en peso de emulsión.

Como se describió anteriormente, se ha encontrado que la adición de ácido tartárico mejora la solubilidad del compuesto. Por tanto, la formulación, particularmente la emulsión, comprende además ácido tartárico. El ácido tartárico se puede añadir a la emulsión en una cantidad entre aproximadamente 0,01 y 3%, tal como aproximadamente 0,1% (p.ej., 0,1031%) en peso de la emulsión total. Alternativamente o adicionalmente, el ácido tartárico se puede añadir a la emulsión en una relación de pesos de entre aproximadamente 0,01:40 y 3:40, tal como aproximadamente 0,1:40 (p.ej., 0,1031:40) de los componentes oleosos/lipídicos. Alternativamente o adicionalmente, el ácido tartárico se puede añadir a la emulsión en una relación de pesos de entre aproximadamente 0,01:0,3 y 3:0,3, tal como aproximadamente 0,1:0,3 (p.ej., 0,1031:0,3) del compuesto.

Las soluciones o suspensiones también pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ser ajustado con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.

Además, las composiciones pueden comprender además aglutinantes (p.ej., goma arábiga, almidón de maíz, gelatina, carbómero, etilcelulosa, goma guar, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, povidona), agentes disgregantes (p.ej., almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico, dióxido de silicio, croscarmelosa de sodio, crospovidona, goma guar, glicolato de almidón sódico), tampones (p.ej., tris-HCl, acetato, fosfato) de varios pH y fuerza iónica, aditivos tales como albúmina o gelatina para evitar la absorción a superficies, detergentes (p.ej., Tween 20, Tween 80, Pluronic F68, sales de ácidos biliares), inhibidores de proteasa, tensioactivos (por ejemplo, laurilsulfato de sodio), mejoradores de permeación, agentes solubilizantes (p.ej., glicerol, polietilenglicerol, ciclodextrinas), un deslizante (p.ej., dióxido de silicio coloidal), antioxidantes (p.ej., ácido ascórbico, metabisulfito de sodio, hidroxianisol butilado), estabilizadores (p.ej., hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa), agentes aumentadores de la viscosidad (p.ej., carbómero, dióxido de silicio coloidal, etilcelulosa, goma guar), edulcorantes (p.ej., aspartamo, ácido cítrico), agentes aromatizantes (p.ej., hierbabuena, salicilato de metilo o aromatizante de naranja), conservantes (p.ej., Timerosal, alcohol bencílico, parabenos), agentes colorantes, lubricantes (p.ej., ácido esteárico, estearato de magnesio, polietilenglicol, laurilsulfato de sodio), auxiliares de flujo (p.ej., dióxido de silicio coloidal), plastificadores (p.ej., ftalato de dietilo, citrato de trietilo), emulsionantes (p.ej., carbómero, hidroxipropilcelulosa, laurilsulfato de sodio), revestimientos de polímero (p.ej., poloxámeros o poloxaminas), agentes de revestimiento y formación de películas (p.ej., etilcelulosa, acrilatos, polimetacrilatos) y/o adyuvantes.

En una realización, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán al compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de entrega microencapsulados. Se pueden usar polímeros biocompatibles, biodegradables, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhidridos, poli(ácido glicólico), colágeno, poliortoésteres, y poli(ácido láctico). Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también se pueden obtener en el mercado en Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También se pueden usar suspensiones liposomales (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales a antígenos víricos) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar según métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. N° 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales en forma unitaria de dosificación por facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma unitaria de dosificación, como se emplea en la presente memoria, se refiere a unidades físicamente discretas adaptadas como dosis unitarias para el sujeto a ser tratado; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención son dictadas por y directamente dependientes de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a ser conseguido, y las limitaciones inherentes en la técnica de la composición de tal compuesto activo para el tratamiento de individuos.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser incluidas en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para la administración.

La administración diaria puede ser repetida continuamente durante un periodo de varios días a varios años. El tratamiento oral puede continuar durante entre una semana y la vida del paciente. Preferiblemente la administración puede tener lugar durante cinco días consecutivos, tiempo después del cual el paciente puede ser evaluado para

determinar si se requiere administración adicional. La administración puede ser continua o intermitente, p.ej., tratamiento durante varios días consecutivos seguido de un periodo de descanso. Las sales o complejos de la presente invención pueden ser administrados por vía intravenosa en el primer día de tratamiento, con administración oral en el segundo día y todos los días consecutivos después.

- 5 La preparación de composiciones farmacéuticas que contienen un componente activo está bien entendida en la técnica, por ejemplo, mediante procedimientos de mezcla, granulado o formación de comprimidos. El ingrediente terapéutico activo se mezcla a menudo con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Para administración oral, los agentes activos se mezclan con aditivos habituales para este fin, tales como vehículos, estabilizadores o diluyentes inertes, y se convierten por métodos habituales en formas adecuadas para la administración, tal como comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas de gelatina blanda o dura, disoluciones acuosas, alcohólicas u oleosas y similares como se detalló anteriormente.

- 10 La cantidad de la sal administrada al paciente es menos que una cantidad que causara toxicidad en el paciente. En ciertas realizaciones, la cantidad de la sal que se administra al paciente es menos que la cantidad que causa una concentración del compuesto en el plasma del paciente para igualar o exceder el nivel tóxico del compuesto. Preferiblemente, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 10 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 25 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 50 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 100 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 500 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 1.000 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 2.500 nM. En una realización, la concentración de la sal en el plasma del paciente es mantenida a aproximadamente 5.000 nM. La cantidad óptima de la sal que debe ser administrada al paciente en la práctica de la presente invención dependerá del compuesto particular usado y el tipo de cáncer que se trata.

## 25 **Definiciones**

Enumeradas a continuación hay definiciones de diversos términos usados para describir esta invención. Estas definiciones se aplican a los términos como son usados en toda esta memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que esté limitado de otro modo en casos específicos, bien individualmente o bien como parte de un grupo más grande.

- 30 El término "alquilo" abarca radicales lineales o ramificados que tienen uno a aproximadamente veinte átomos de carbono o, preferiblemente, uno a aproximadamente doce átomos de carbono. Son radicales alquilo más preferidos radicales alquilo inferiores que tienen uno a aproximadamente diez átomos de carbono. Los más preferidos son radicales alquilo inferiores que tienen uno a aproximadamente ocho átomos de carbono. Ejemplos de tales radicales incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, iso-amilo, hexilo y similares.

- 35 El término "alquenilo" abarca radicales lineales o ramificados que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono de dos a aproximadamente veinte átomos de carbono o, preferiblemente, dos a aproximadamente doce átomos de carbono. Son radicales alquenilo más preferidos radicales alquenilo inferiores que tienen dos a aproximadamente diez y más preferiblemente aproximadamente dos a aproximadamente ocho átomos de carbono. Ejemplos de radicales alquenilo incluyen etenilo, alilo, propenilo, butenilo y 4-metilbutenilo. Los términos "alquenilo", y "alquenilo inferior", abarcan radicales que tienen orientaciones "cis" y "trans", o alternativamente, orientaciones "E" y "Z".

- 40 El término "alquinilo" abarca radicales lineales o ramificados que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono de dos a aproximadamente veinte átomos de carbono o, preferiblemente, dos a aproximadamente doce átomos de carbono. Son radicales alquinilo más preferidos radicales alquinilo inferiores que tienen dos a aproximadamente diez y más preferiblemente dos a aproximadamente ocho átomos de carbono. Ejemplos de radicales alquinilo incluyen propargilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butino, 2-butinilo y 1-pentinilo.

- 45 El término "alcoxi" abarca radicales lineales o ramificados que contienen oxígeno, teniendo cada uno porciones alquilo de uno a aproximadamente veinte átomos de carbono o, preferiblemente, uno a aproximadamente doce átomos de carbono. Son radicales alcoxi más preferidos radicales alcoxi inferiores que tienen uno a aproximadamente diez y más preferiblemente que tienen uno a aproximadamente ocho átomos de carbono. Ejemplos de tales radicales incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y terc-butoxi.

- 50 El término "alcoxialcoxi" abarca radicales alcoxi que tienen uno o más radicales alcoxi unidos al radical alquilo, esto es, para formar radicales monoalcoxialquilo y dialcoxialquilo.

- 55 El término "compuesto" se define en la presente memoria para incluir sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, polimorfos, enantiómeros, diastereoisómeros, racematos y similares de los compuestos abarcados por las fórmulas I, II, III o IV expuestas en la presente memoria.

- El término "sustituido" se refiere al reemplazo de uno o más radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado, que incluye, pero no se limita a: halo, alquilo, alqueno, alquino, arilo, heterocíclico, tiol, alquiltio, ariltio, alquiltioalquilo, ariltioalquilo, alquilsulfonilo, alquilsulfonilalquilo, arilsulfonilalquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, haloalquilo, amino, trifluorometilo, ciano, nitro, alquilamino, arilamino, alquilaminoalquilo, arilaminoalquilo, aminoalquilamino, hidroxilo, alcoxialquilo, carboxialquilo, alcoxicarbonilalquilo, aminocarbonilalquilo, acilo, aralcoxicarbonilo, ácido carboxílico, ácido sulfónico, sulfonilo, ácido fosfónico, arilo, heteroarilo, heterocíclico, y alifático. Se entiende que el sustituyente puede estar además sustituido.
- Los términos "halógeno" o "halo", como se emplean en la presente memoria, se refieren a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.
- Como se emplea en la presente memoria, el término "proliferación aberrante" se refiere a crecimiento celular anormal.
- La frase "terapia adjuntiva" abarca el tratamiento de un sujeto con agentes que reducen o evitan efectos secundarios asociados con la terapia de combinación de la presente invención, que incluyen, pero no se limitan a, los agentes, por ejemplo, que reducen el efecto tóxico de fármacos anticáncer, p.ej., inhibidores de la resorción ósea, agentes cardioprotectores; previenen o reducen la incidencia de náuseas y vómitos asociada con quimioterapia, radioterapia u operación; o reducen la incidencia de infección asociada con la administración de fármacos anticáncer mielosupresores.
- El término "angiogénesis", como se emplea en la presente memoria, se refiere a la formación de vasos sanguíneos. Específicamente, la angiogénesis es un proceso multietapas en el que células endoteliales se degradan focalmente e invaden a través de su propia membrana de basamento, migran a través del estroma intersticial hacia un estímulo angiogénico, proliferan próximas a la punta de migración, se organizan en los vasos sanguíneos, y se readhieren a membrana de basamento recién sintetizada (véase Folkman et al., Adv. Cancer Res., Vol. 43, pp. 175-203 (1985)). Los agentes anti-angiogénicos interfieren con este proceso. Ejemplos de agentes que interfieren con varias de estas etapas incluyen trombospondina-1, angiostatina, endostatina, interferón alfa y compuestos tales como inhibidores de metaloproteinasas matriciales (MMP) que bloquean las acciones de enzimas que despejan y crean caminos para que los vasos sanguíneos en nueva formación sigan; compuestos, tales como inhibidores de .alfa.v.beta.3, que interfieren con moléculas que usan las células de los vasos sanguíneos para formar un puente entre un vaso sanguíneo parental y un tumor; agentes, tales como inhibidores de COX-2 específicos, que impiden el crecimiento de células que forman nuevos vasos sanguíneos; y compuestos basados en proteínas que interfieren simultáneamente con varias de estas dianas.
- El término "apoptosis", como se emplea en la presente memoria, se refiere a muerte celular programada, señalizada por los núcleos en células humanas y animales de funcionamiento normal cuando la edad o estado de la salud y condición celular lo dicta. Un "agente inductor de la apoptosis" desencadena el proceso de muerte celular programada.
- El término "cáncer", como se emplea en la presente memoria, denota una clase de enfermedades o trastornos caracterizados por división incontrolada de células y la capacidad de estas células de invadir otros tejidos, bien por crecimiento directo en tejido adyacente mediante invasión o bien por implantación en sitios distantes por metástasis.
- El término "compuesto" se define en la presente memoria para incluir sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, polimorfos, enantiómeros, diastereoisómeros, racematos y similares de los compuestos que tienen una fórmula como las expuestas en la presente memoria.
- El término "dispositivos" se refiere a cualquier aparato, usualmente mecánico o eléctrico, diseñado para realizar una función particular.
- Como se emplea en la presente memoria, el término "displasia" se refiere a crecimiento celular anormal, y típicamente se refiere a la forma más temprana de lesión precancerosa reconocible en una biopsia por un patólogo.
- Como se emplea en la presente memoria, el término "cantidad eficaz de los presentes compuestos", con respecto al presente método de tratamiento, se refiere a una cantidad del compuesto en cuestión que, cuando se administra como parte de un régimen de dosis deseado, causa, p.ej., un cambio en la velocidad de proliferación celular y/o estado de diferenciación y/o tasa de supervivencia de una célula a estándares clínicamente aceptables. Esta cantidad puede aliviar además hasta cierto punto uno o más de los síntomas de un trastorno de neoplasia, que incluye, pero no se limita a: 1) reducción en el número de células de cáncer; 2) reducción en el tamaño del tumor; 3) inhibición (es decir, ralentización hasta cierto punto, preferiblemente detención) de la infiltración de células de cáncer en órganos periféricos; 4) inhibición (es decir, ralentización hasta cierto punto, preferiblemente detención) de la metástasis del tumor; 5) inhibición, hasta cierto punto, del crecimiento del tumor; 6) alivio o reducción hasta cierto punto de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno; y/o 7) alivio o reducción de los efectos secundarios asociados con la administración de agentes anticáncer.

El término "hiperplasia", como se emplea en la presente memoria, se refiere a división o crecimiento celular excesivos.

5 La frase un "agente inmunoterapéutico" se refiere a agentes usados para transferir la inmunidad de un donante inmune, p.ej., otra persona o un animal, a un huésped por inoculación. El término abarca el uso de suero o gammaglobulina que contiene anticuerpos preformados producidos por otro individuo o un animal; estimulación sistémica no específica; adyuvantes; inmunoterapia específica activa; e inmunoterapia adoptiva. La inmunoterapia adoptiva se refiere al tratamiento de una enfermedad por terapia o agentes que incluyen inoculación del huésped de linfocitos sensibilizados, factor de transferencia, ARN inmune, o anticuerpos en suero o gammaglobulina.

10 El término "inhibición", en el contexto de neoplasia, crecimiento del tumor o crecimiento de las células del tumor, puede ser evaluado por la aparición retardada de tumores primarios o secundarios, desarrollo ralentizado de tumores primarios o secundarios, ocurrencia disminuida de tumores primarios o secundarios, gravedad ralentizada o disminuida de efectos secundarios de la enfermedad, crecimiento del tumor detenido y regresión de tumores, entre otros. En el extremo, inhibición completa, se denomina en la presente memoria a la prevención o quimioprevención.

15 El término "metástasis", como se emplea en la presente memoria, se refiere a la migración de células de cáncer desde el sitio original del tumor a través de los vasos sanguíneos y linfáticos para producir cánceres en otros tejidos. Metástasis es también el término usado para un cáncer secundario que crece en un sitio distante.

20 El término "neoplasma", como se emplea en la presente memoria, se refiere a una masa anormal de tejido que resulta de una división celular excesiva. Los neoplasmas pueden ser benignos (no cancerosos), o malignos (cancerosos) y también se pueden llamar tumor. El término "neoplasia" es el proceso patológico que da como resultado la formación de un tumor.

Como se emplea en la presente memoria, el término "precanceroso" se refiere a una afección que no es maligna, pero es probable que llegue a ser maligna si se deja sin tratar.

El término "proliferación" se refiere a células que sufren mitosis.

25 La frase "enfermedad o trastorno relacionado con EGFR-TK" se refiere a una enfermedad o trastorno caracterizado por actividad de EGFR-TK inapropiada o sobreactividad del EGFR-TK. Actividad inapropiada se refiere a cualquiera de; (i) expresión de EGFR-TK en células que normalmente no expresan EGFR-TKs; (ii) expresión de EGFR-TK aumentada que conduce a proliferación, diferenciación y/o crecimiento celular indeseados; o, (iii) expresión de EGFR-TK disminuida, que conduce a reducciones indeseadas en proliferación, diferenciación y/o crecimiento celular. La sobreactividad de EGFR-TKs se refiere bien a amplificación del gen que codifica un EGFR-TK particular o bien a la producción de un nivel de actividad de EGFR-TK que puede correlacionarse con un trastorno de proliferación, diferenciación y/o crecimiento celular (esto es, según aumenta el nivel del EGFR-TK, aumenta la gravedad de uno o más de los síntomas del trastorno celular). La sobreactividad también puede ser el resultado de una activación independiente de ligando o constitutiva como resultado de mutaciones tales como deleciones de un fragmento de un EGFR-TK responsable de la unión de ligandos.

35 La frase un "agente radioterapéutico" se refiere al uso de radiación electromagnética o de partículas en el tratamiento de la neoplasia.

40 El término "recurrencia", como se emplea en la presente memoria, se refiere al retorno del cáncer después de un periodo de remisión. Esto puede ser debido a la retirada incompleta de células del cáncer inicial, y puede ocurrir localmente (el mismo sitio del cáncer inicial), regionalmente (en la vecindad del cáncer inicial, posiblemente en los nodos linfáticos o tejidos), y/o distalmente como resultado de metástasis.

El término "tratamiento" se refiere a cualquier procedimiento, acción, aplicación, terapia, o similar, en donde un mamífero, incluyendo un ser humano, es sometido a ayuda médica con el objeto de mejorar la afección del mamífero, directamente o indirectamente.

45 El término "vacuna" incluye agentes que inducen que el sistema inmunitario del paciente acumule una respuesta inmunitaria contra el tumor atacando células que expresan antígenos asociados al tumor (TAAs).

50 Como se emplea en la presente memoria, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del juicio médico sensato, adecuadas para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales con una relación beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S.M. Berge, et al. describe sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). Las sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos de la invención, o por separado haciendo reaccionar la función de base libre con un ácido orgánico o ácido inorgánico adecuado.

55 Como se emplea en la presente memoria, el término "éster farmacéuticamente aceptable" se refiere a ésteres que se hidrolizan in vivo, e incluyen los que se escinden fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto



parental o una sal del mismo. Los grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, los derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanóicos, alquenoicos, cicloalcanóicos y alcanodioicos, en los que cada resto alquilo o alquenoilo tiene ventajosamente no más que 6 átomos de carbono. Ejemplos de ésteres particulares incluyen, pero no se limitan a, formiatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

El término "profármacos farmacéuticamente aceptables", como se emplea en la presente memoria, se refiere a aquellos profármacos de los compuestos de la presente invención que son, dentro del alcance del juicio médico sensato, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares, proporcionales con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso pretendido, así como las formas de ión dipolar, donde sea posible, de los compuestos de la presente invención. "Profármaco", como se emplea en la presente memoria, significa un compuesto que es convertible in vivo por medios metabólicos (p.ej. por hidrólisis) en un compuesto de la invención. Se conocen en la técnica diversas formas de profármacos, por ejemplo, como se discute en Bundgaard, (ed.), *Design of Prodrugs*, Elsevier (1985); Widder, et al. (ed.), *Methods in Enzymology*, vol. 4, Academic Press (1985); Krogsgaard-Larsen, et al., (ed). "Design and Application of Prodrugs, Textbook of Drug Design and Development", Chapter 5, 113-191 (1991); Bundgaard, et al., *Journal of Drug Deliver Reviews*, 8:1-38(1992); Bundgaard, J. of *Pharmaceutical Sciences*, 77:285 et seq. (1988); Higuchi and Stella (eds.) *Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems*, American Chemical Society (1975); y Bernard Testa & Joachim Mayer, "Hydrolysis In Drug And Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry And Enzymology," John Wiley and Sons, Ltd. (2002).

Como se emplea en la presente memoria, "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica, tales como agua estéril apirogénica. Se describen vehículos adecuados en la edición más reciente de Remington's *Pharmaceutical Sciences*, un texto de referencia estándar en el campo, que se incorpora en la presente memoria por referencia. Los ejemplos preferidos de tales vehículos o diluyentes incluyen, pero no se limitan a, agua, suero salino, soluciones de finger, solución de dextrosa, y albúmina de suero humano al 5%. También se pueden usar liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijos. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio convencional o agente sea incompatible con el compuesto activo, el uso del mismo en las composiciones está contemplado. También se pueden incorporar compuestos activos suplementarios en las composiciones.

Como se emplea en la presente memoria, el término "precanceroso" se refiere a una afección que no es maligna, pero es probable que llegue a ser maligna si se deja sin tratar.

El término "sujeto", como se emplea en la presente memoria, se refiere a un animal. Preferiblemente el animal es un mamífero. Más preferiblemente el mamífero es un ser humano. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, conejillos de indias, peces, pájaros y similares.

Las sales o complejos de esta invención pueden ser modificados adjuntando funcionalidades apropiadas para potenciar propiedades biológicas selectivas. Tales modificaciones son conocidas en la técnica, y pueden incluir aquellas que aumentan la penetración biológica en un sistema biológico dado (p.ej., sangre, sistema linfático, sistema nervioso central), aumentan la disponibilidad oral, aumentan la solubilidad para permitir la administración por inyección, alteran el metabolismo y alteran la velocidad de excreción.

Los compuestos sintetizados o sales de tartrato o complejos de los mismos pueden ser separados de una mezcla de reacción y purificados adicionalmente por un método tal como cromatografía en columna, cromatografía líquida de alta presión, o recristalización. Como puede apreciar el experto en la materia, métodos adicionales de sintetizar los compuestos de las fórmulas de la presente memoria serán evidentes para los expertos habituales en la técnica. Adicionalmente, las diversas etapas de síntesis se pueden realizar en una secuencia u orden alterno para dar los compuestos deseados. Se conocen en la técnica transformaciones de química de síntesis y metodologías de grupos protectores (protección y desprotección) útiles en la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria, e incluyen, por ejemplo, aquellos tales como los descritos en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2d. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedic of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), y ediciones posteriores del mismo.

Los compuestos descritos en la presente memoria pueden contener uno o más centros asimétricos, y dar lugar por tanto a enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que pueden ser definidas, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-, o como (D)- o (L)- para aminoácidos. La presente invención pretende incluir todos los tales posibles isómeros, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Los isómeros ópticos se pueden preparar a partir de sus respectivos precursores ópticamente activos mediante los procedimientos descritos anteriormente, o resolviendo las mezclas racémicas. La resolución se puede llevar a cabo en presencia de un agente de resolución, por cromatografía o por cristalización repetida o por alguna combinación de estas técnicas, que son conocidas por los expertos en la técnica. Se pueden encontrar detalles adicionales con respecto a

- resoluciones en Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates, and Resolutions* (John Wiley & Sons, 1981). Cuando los compuestos descritos en la presente memoria contienen dobles enlaces olefinicos, otra insaturación, u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan tanto los isómeros geométricos E como Z y/o los isómeros cis y trans. Asimismo, también se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas. La configuración de cualquier doble enlace carbono-carbono que aparece en la presente memoria se selecciona sólo por conveniencia, y no pretende designar una configuración particular, a menos que el texto así lo indique; así, un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-heteroátomo representado arbitrariamente en la presente memoria como trans puede ser cis, trans, o una mezcla de los dos en cualquier proporción.
- En algunas realizaciones, el compuesto inventivo es una forma cristalina o amorfa de un compuesto de la invención. En otra realización, el compuesto inventivo es una mezcla de dos o más formas cristalinas del compuesto. En una realización adicional, la invención es una forma cristalina o una mezcla de dos o más formas cristalinas del compuesto 12. se puede preparar una forma cristalina del compuesto 12 sustancialmente como se describe en el Ejemplo 8 (Método 2) más adelante.
- Las diferentes formas cristalinas de los compuestos químicos (o polimorfos) exhiben cada una diferentes propiedades físicas, químicas, espectroscópicas y/o cristalográficas. En una realización, la forma cristalina de la invención tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos principales en común con el patrón de difracción de rayos X en polvo del cristal preparado según el Ejemplo de trabajo 8 (Método 2). Un pico principal es un pico de XRPD con una intensidad relativa mayor que aproximadamente 25%; la intensidad relativa se calcula como una relación de la intensidad de pico del pico de interés frente a la intensidad de pico del pico más grande. Como se emplea en la presente memoria, un pico para la forma cristalina está en común con el patrón de XRPD del cristal preparado según el Ejemplo 8 (Método 2) si está dentro de  $0,5^\circ 2\theta$  de una ubicación de pico para el cristal preparado según el Ejemplo 8 (Método 2). En otra realización, la forma cristalina del compuesto 12 tiene una transición endotérmica dentro de aproximadamente  $1,0^\circ\text{C}$  de la forma cristalina preparada según el Ejemplo 8 (Método 2). En aún otra realización, la forma cristalina del compuesto 12 tiene una transición endotérmica (observada por calorimetría de barrido diferencial) dentro de aproximadamente  $0,5^\circ\text{C}$  de la del cristal formado según el Ejemplo 8 (Método 2) y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho picos principales en común con el patrón de XRPD del compuesto preparado según el Ejemplo 8 (Método 2). En una realización adicional, la forma cristalina del compuesto 12 exhibe un patrón de calorimetría de barrido diferencial que es sustancialmente el mismo que el patrón de calorimetría de barrido diferencial del compuesto producido según el Ejemplo 8 (Método 2).

#### Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención formulado junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Como se emplea en la presente memoria, el término "vehículo excipiente farmacéuticamente aceptable" significa una carga, diluyente, material encapsulante o formulación auxiliar de cualquier tipo no tóxica, inerte, sólida, semisólida o líquida. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables son azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; ciclodextrinas tales como alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) y gamma ( $\gamma$ ) ciclodextrinas; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites tales 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 tales como propilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes amortiguadores tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico, y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes solubilizantes, agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, según el juicio del formulador.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, por pulverizador para inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o por medio de un reservorio implantado, preferiblemente por administración oral o administración por inyección. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener cualesquiera excipientes, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales. En algunos casos, el pH de la formulación se puede ajustar con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables para potenciar la estabilidad del compuesto formulado o su forma de entrega. El término parenteral, como se emplea en la presente memoria, incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinovial, intrasternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los compuestos activos, las formas de

- dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales 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, castaña, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.
- Preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, se pueden formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes suspensores adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están agua, solución de Ringer, y solución de cloruro de sodio isotónica U.S.P. Además, se emplean aceites no volátiles, estériles, como disolvente o medio de suspensión. Para este fin se puede emplear cualquier aceite no volátil suave, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.
- Las formulaciones inyectables puede ser esterilizadas, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención bacteriana, o incorporando agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden ser disueltas o dispersadas en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.
- A fin de prolongar el efecto de un fármaco, a menudo es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se lleva a cabo disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso. Las formas inyectables de actividad prolongada se preparan formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, la velocidad de liberación del fármaco puede ser controlada. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de actividad prolongada atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.
- Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de esta invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura del cuerpo, y por lo tanto se funden en el recto o cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.
- Las formas sólidas de dosificación para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas sólidas de dosificación, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, inerte, tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o: a) cargas o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábica, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes amortiguadores.
- Composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.
- Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y cortezas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y también pueden ser de una composición que libere el (los) ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones recubridoras que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.
- Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y cualesquiera conservantes o amortiguadores necesitados, según se pueda requerir. También están contempladas dentro del

alcance de esta invención formulaciones oftálmicas, gotas para los oídos, pomadas para los ojos, polvos y soluciones.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de los compuestos de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizadores pueden contener adicionalmente propelentes habituales tales como clorofluorohidrocarbonos.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una entrega controlada de un compuesto al cuerpo. Tales formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede ser controlada bien proporcionando una membrana controladora de la velocidad o bien dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Para entrega pulmonar, una composición terapéutica de la invención se formula y administra al paciente en forma de partículas sólidas o líquidas por administración directa, p.ej., inhalación en el sistema respiratorio. Las formas en partículas sólidas o líquidas del compuesto activo preparadas para practicar la presente invención incluyen partículas de tamaño respirable: esto es, partículas de un tamaño suficientemente pequeño para pasar a través de la boca y laringe tras la inhalación y hacia los bronquios y alvéolos de los pulmones. La entrega de terapéuticos aerosolizados, particularmente antibióticos aerosolizados, se conoce en la técnica (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 5.767.068 de VanDevanter et al., la patente de EE.UU. N° 5.508.269 de Smith et al., y la solicitud de patente internacional WO 98/43.650 de Montgomery, todas las cuales se incorporan en la presente memoria por referencia). Se encuentra también una discusión de la entrega pulmonar de antibióticos en la patente de EE.UU. N° 6.014.969, incorporada en la presente memoria por referencia.

Por una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la invención se quiere decir una cantidad del compuesto que confiere un efecto terapéutico al sujeto tratado, en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, mensurable por algún ensayo o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de o siente un efecto). Una cantidad eficaz del compuesto descrito anteriormente puede oscilar de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/kg. Las dosis eficaces variarán también dependiendo de la ruta de administración, así como la posibilidad de co-utilización con otros agentes. Se entenderá, sin embargo, que la utilización diaria total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidida por el médico asistente dentro del alcance del juicio médico sensato. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente particular dependerá de diversos factores, que incluyen el trastorno que se trata y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el momento de administración, ruta de administración y velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o contemporáneamente con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

La dosis diaria total de los compuestos de esta invención administrada a un ser humano u otro animal en dosis únicas o divididas puede ser en cantidades, por ejemplo, de 0,01 a 50 mg/kg de peso corporal, o más usualmente de 0,1 a 25 mg/kg de peso corporal. Las composiciones de dosis única pueden contener tales cantidades o submúltiplos de los mismos para constituir la dosis diaria. En general, los regímenes de tratamiento según la presente invención comprenden la administración a un paciente necesitado de tal tratamiento de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1.000 mg del (de los) compuesto(s) de esta invención por día en dosis únicas o múltiples.

Las sales o complejos de las fórmulas descritas en la presente memoria pueden, por ejemplo, ser administradas por inyección, por vía intravenosa, intraarterial, subdérmica, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea; o por vía oral, bucal, nasal, transmucosal, tópica, en una preparación oftálmica, o por inhalación, con una dosificación que oscila de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, alternativamente dosificaciones entre 1 mg y 1,00 mg/dosis, cada 4 a 120 horas, o según los requisitos del fármaco particular. Los métodos de la presente memoria contemplan la administración de una cantidad eficaz de sal o composición farmacéutica que comprende la sal para conseguir el efecto deseado o indicado. Por regla general, las composiciones farmacéuticas de esta invención serán administradas de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 veces por día o, alternativamente, como una infusión continua. Tal administración se puede usar como una terapia aguda o crónica. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Una preparación típica contendrá de aproximadamente 5% a aproximadamente 95% de sal activa (p/p). Alternativamente, tales preparaciones pueden contener de aproximadamente 20% a aproximadamente 80% de sal activa.

5 Pueden requerirse dosis más bajas o más altas que las citadas anteriormente. La dosificación específica y regímenes de tratamiento para cualquier paciente particular dependerán de diversos factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, estado de salud general, sexo, dieta, momento de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad y curso de la enfermedad, condición o síntomas, la disposición del paciente a la enfermedad, condición o síntomas, y el juicio del médico tratante.

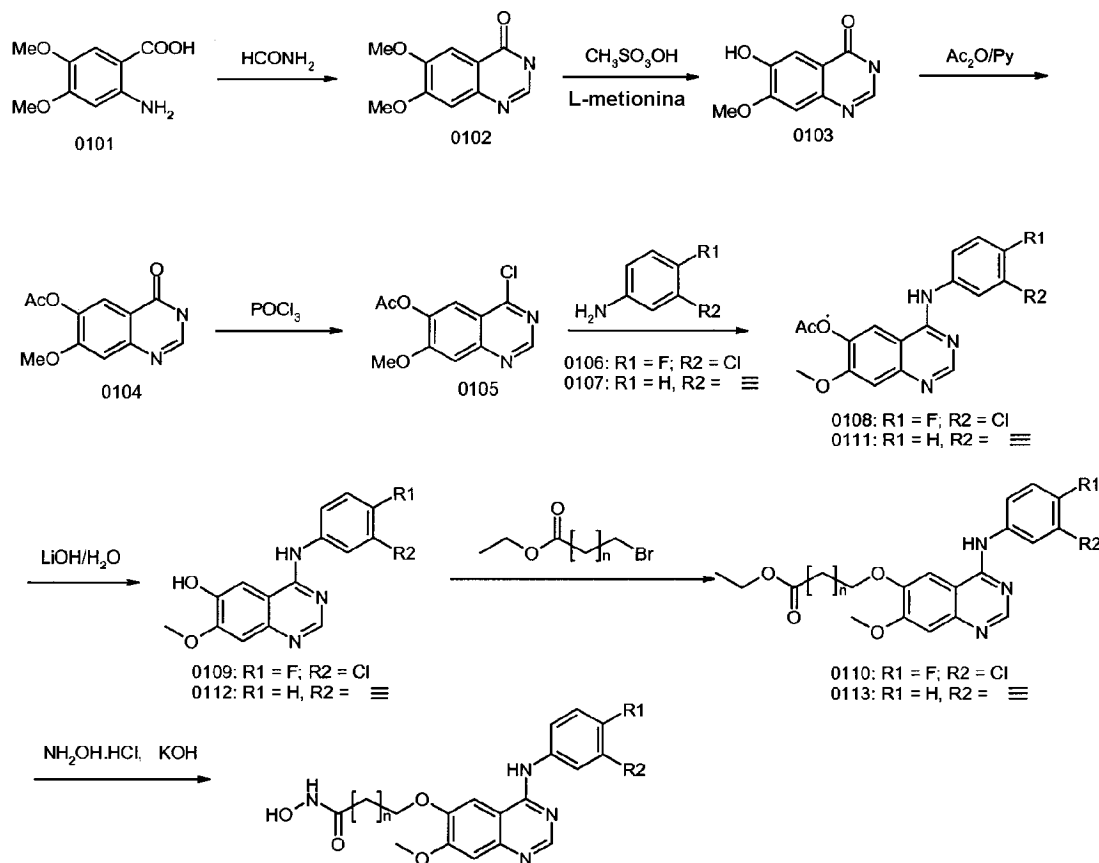
10 Tras la mejora de la condición de un paciente, se puede administrar una dosis de mantenimiento de una sal, composición o combinación de esta invención, si fuera necesario. Posteriormente, la dosificación o frecuencia de administración, o ambos, pueden ser reducidos, en función de los síntomas, hasta un nivel en el que la condición mejorada es retenida cuando los síntomas han sido aliviados hasta el nivel deseado. Los pacientes pueden requerir, sin embargo, tratamiento intermitente en una base a largo plazo tras cualquier recurrencia de síntomas de enfermedad.

Métodos de síntesis

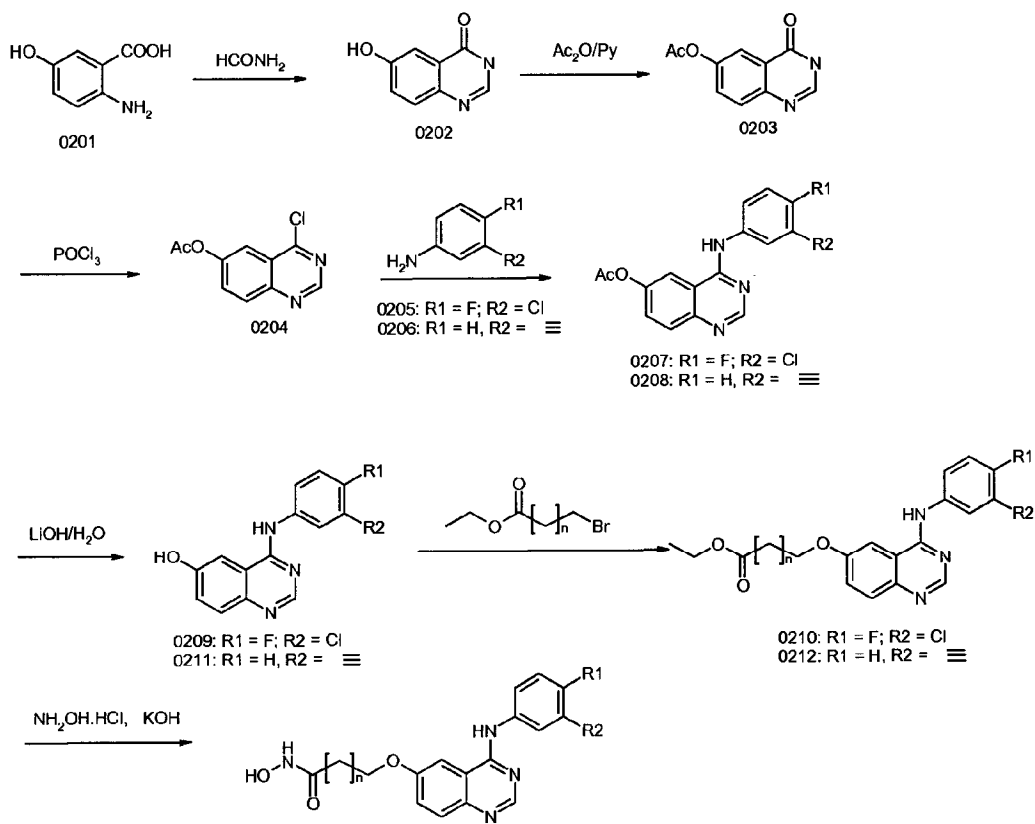
15 Se puede preparar un derivado de quinazolina de cualquiera de las fórmulas I-IV, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por cualquier procedimiento conocido que sea aplicable a la preparación de compuestos químicamente relacionados. Procedimientos adecuados para preparar ciertos compuestos intermedios incluyen, por ejemplo, los ilustrados en las solicitudes de patente europea Nos. 0520722, 0566226, 0602851, 0635498, 0635507, las patentes de EE.UU. Nos. 5.457.105, 5.770.599, la publicación de EE.UU. N° 2003/0158408 y referencias tales como J. Med Chem. 2004, 47, 871-887. Los materiales de partida necesarios se pueden obtener por procedimientos estándar de química orgánica. La preparación de tales materiales de partida se describe dentro de los Ejemplos no limitantes acompañantes. Alternativamente los materiales de partida necesarios son obtenibles por procedimientos análogos a los ilustrados, que están dentro de la experiencia habitual de un químico.

25 Los compuestos y procedimientos de la presente invención se entenderán mejor en conexión con los siguientes esquemas de síntesis representativos que ilustran los métodos por los que se pueden preparar los compuestos de la invención, que se pretende que sean sólo una ilustración y no limitantes del alcance de la invención.

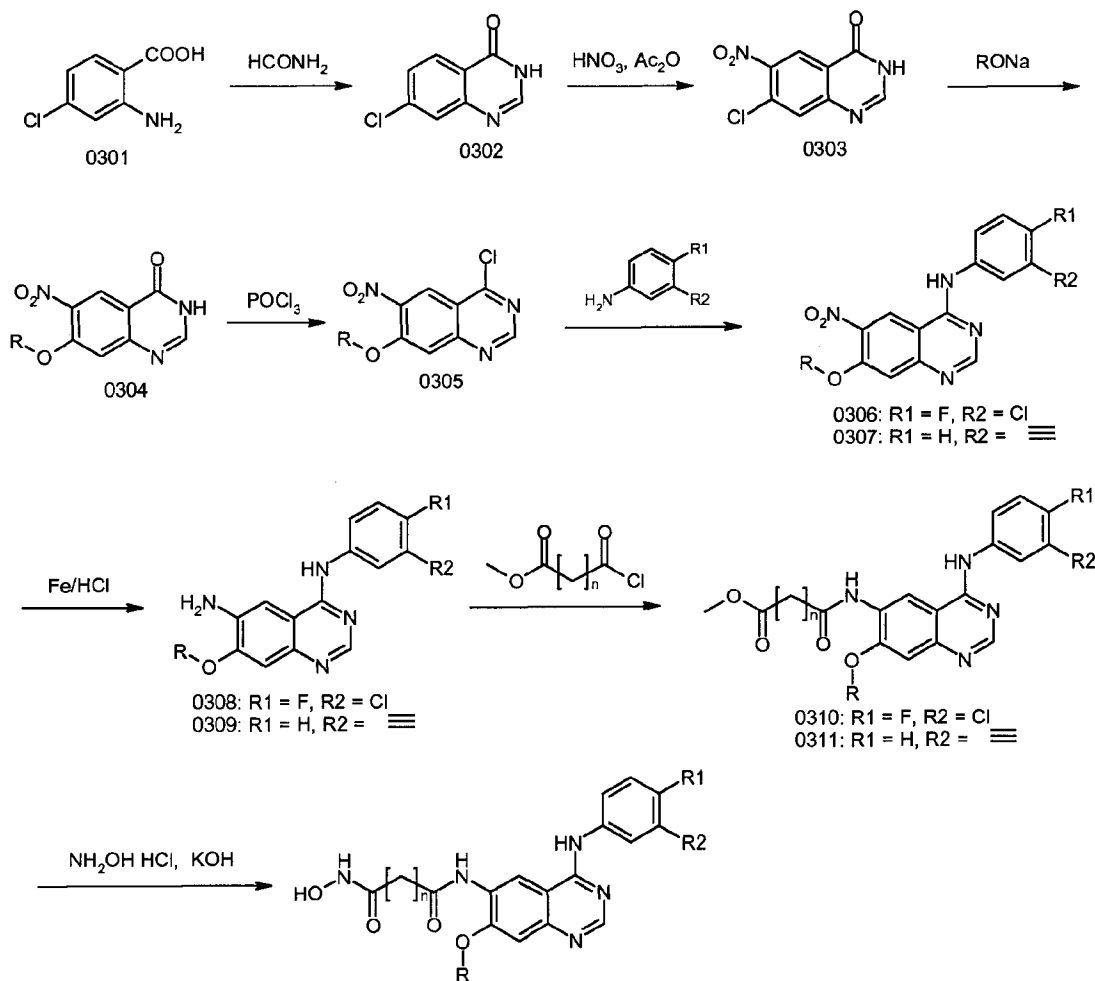
Esquema 1



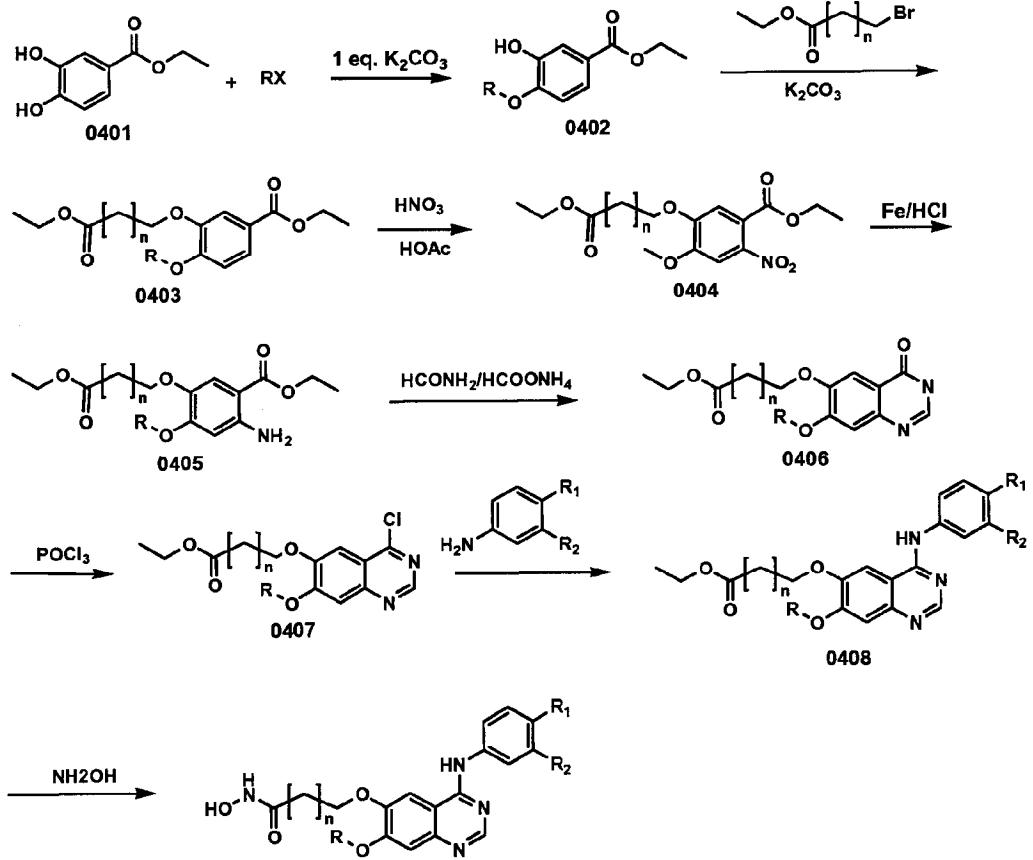
**Esquema 2**



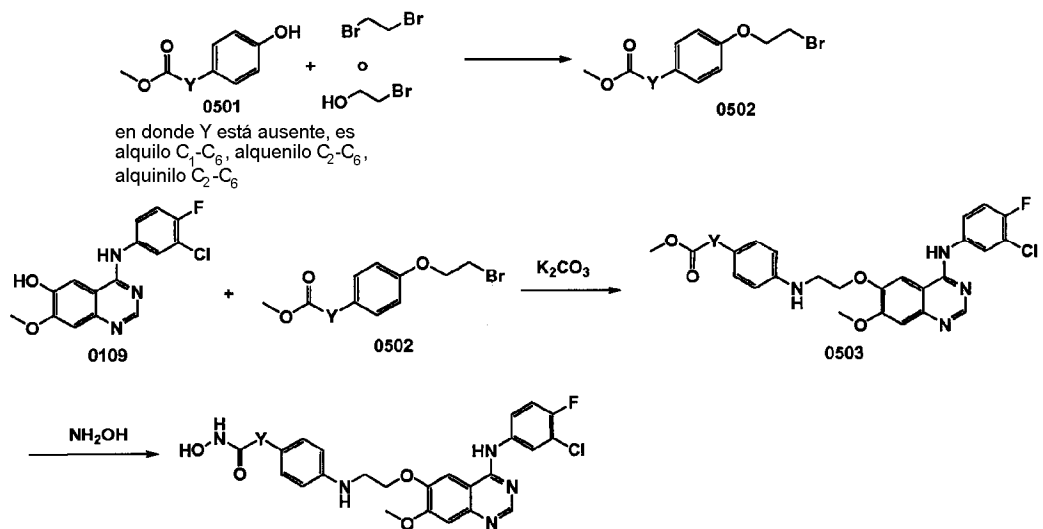
**Esquema 3**



**Esquema 4**

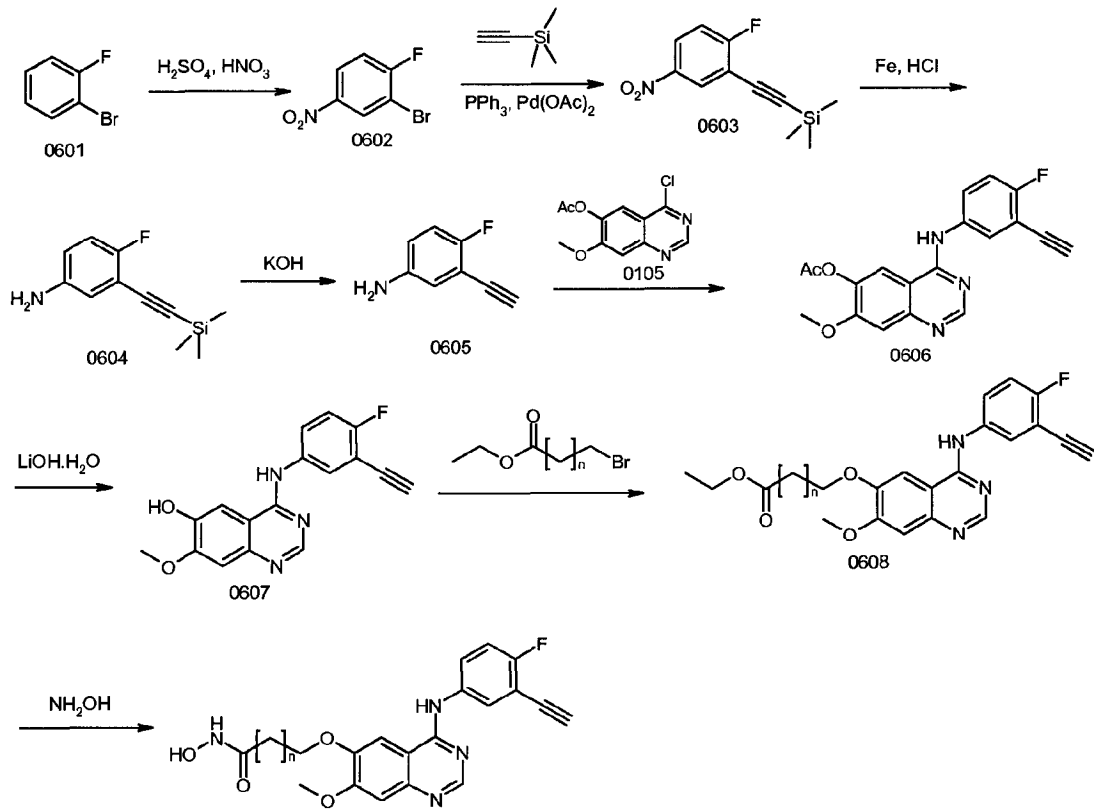


**Esquema 5**

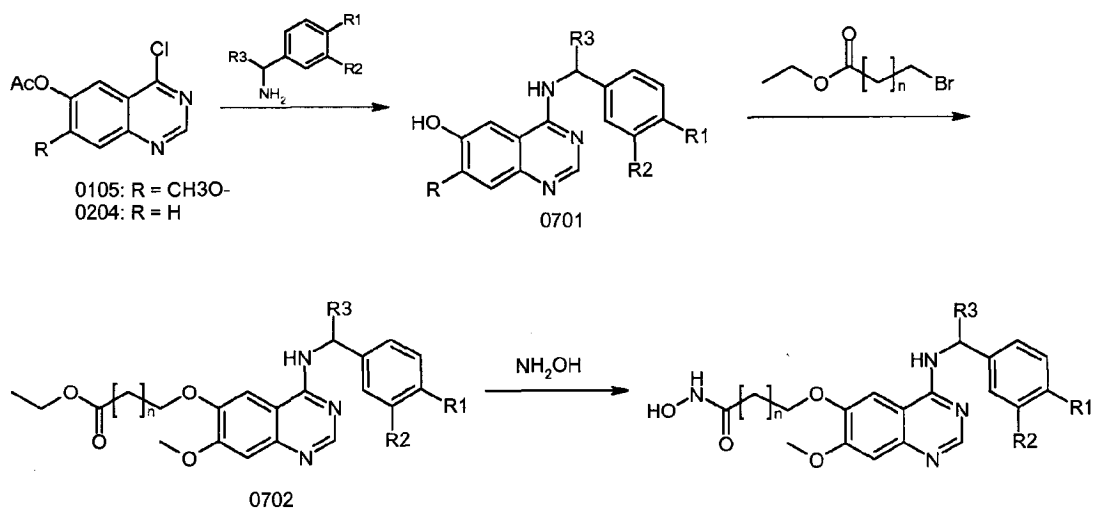




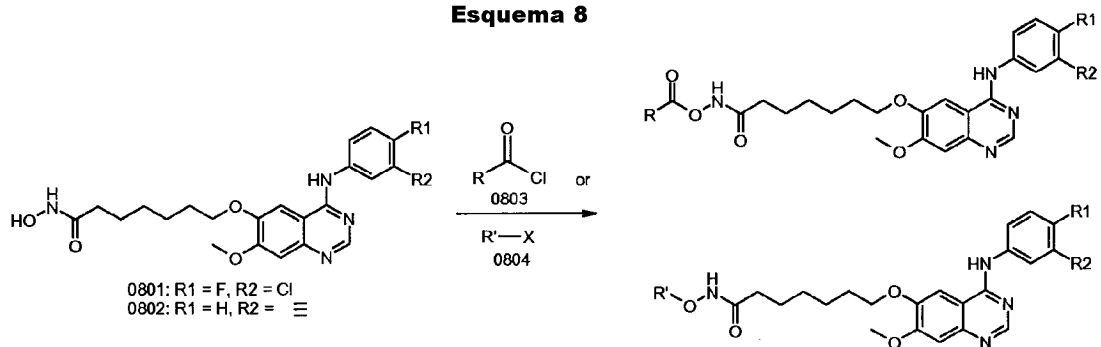
**Esquema 6**



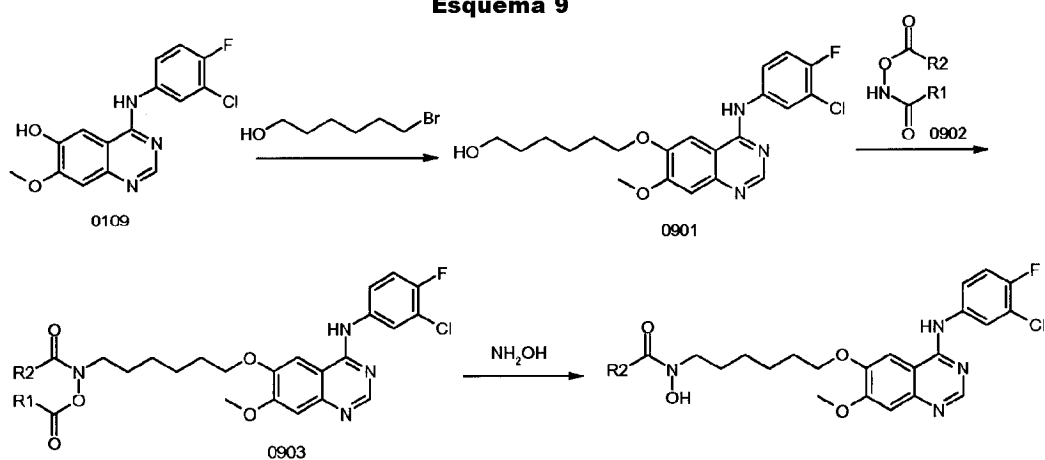
**Esquema 7**



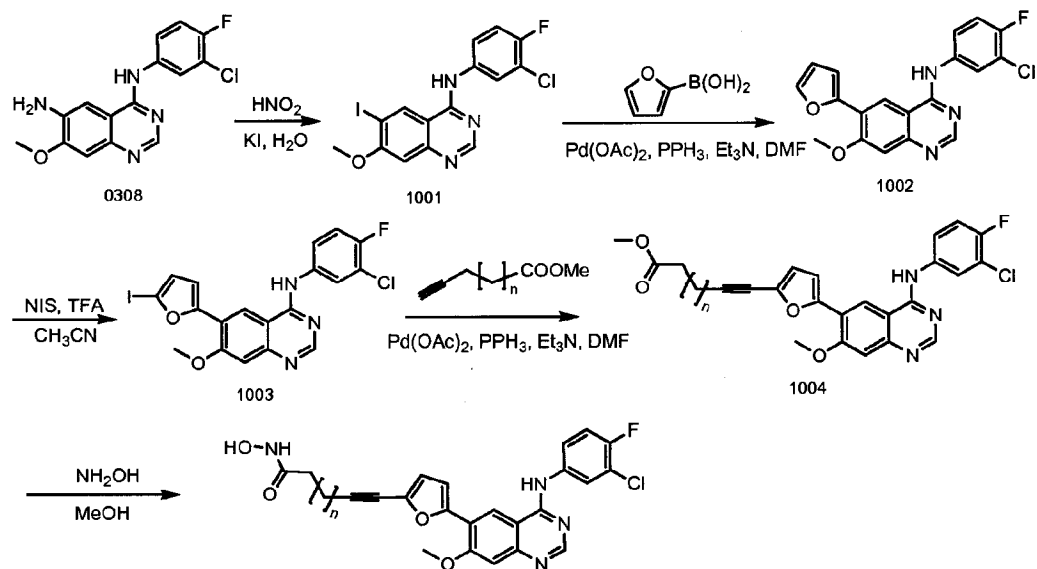
**Esquema 8**



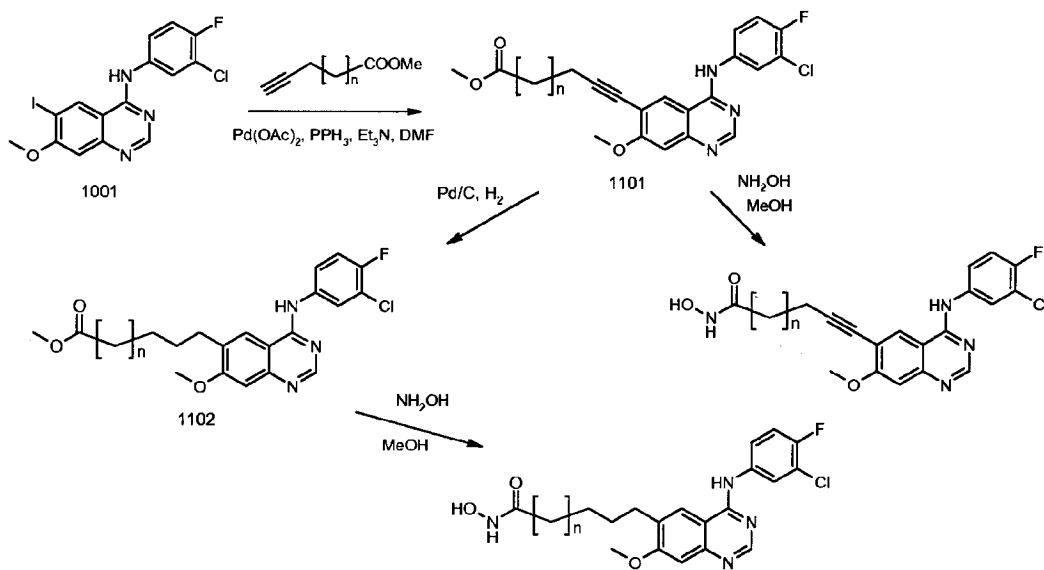
**Esquema 9**



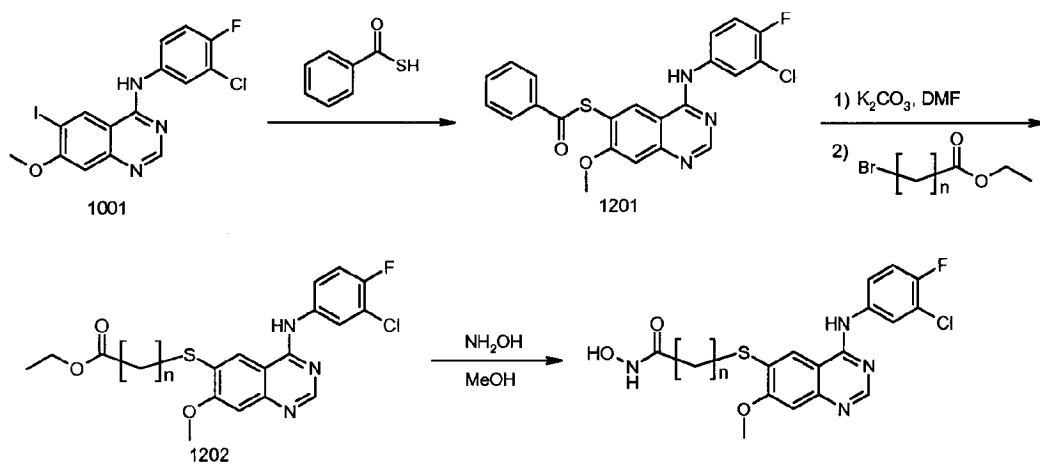
**Esquema 10**



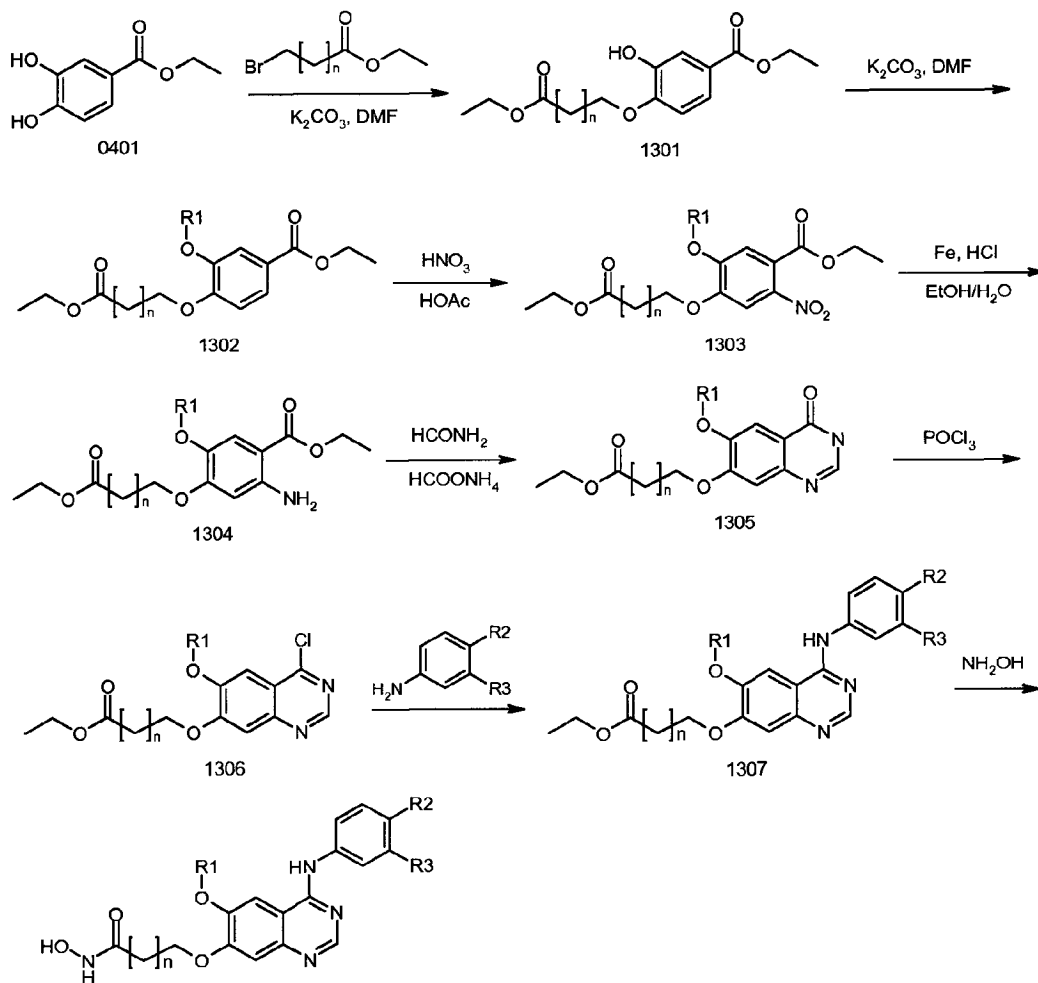
**Esquema 11**



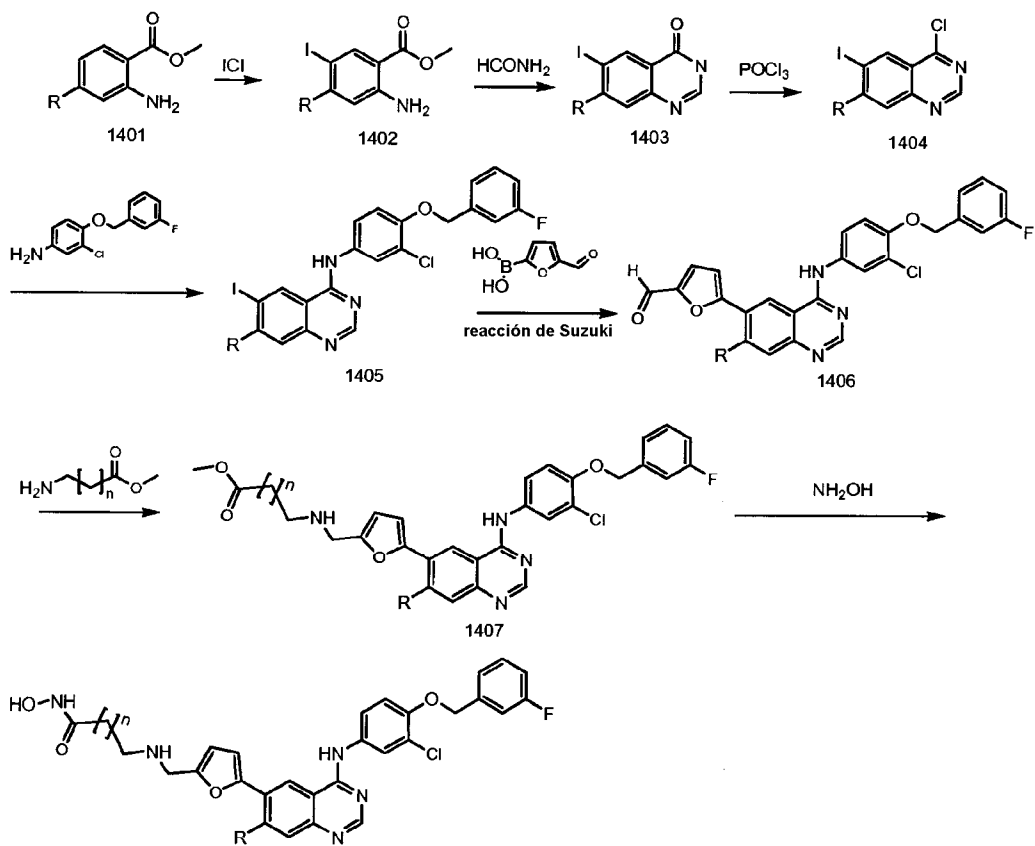
**Esquema 12**



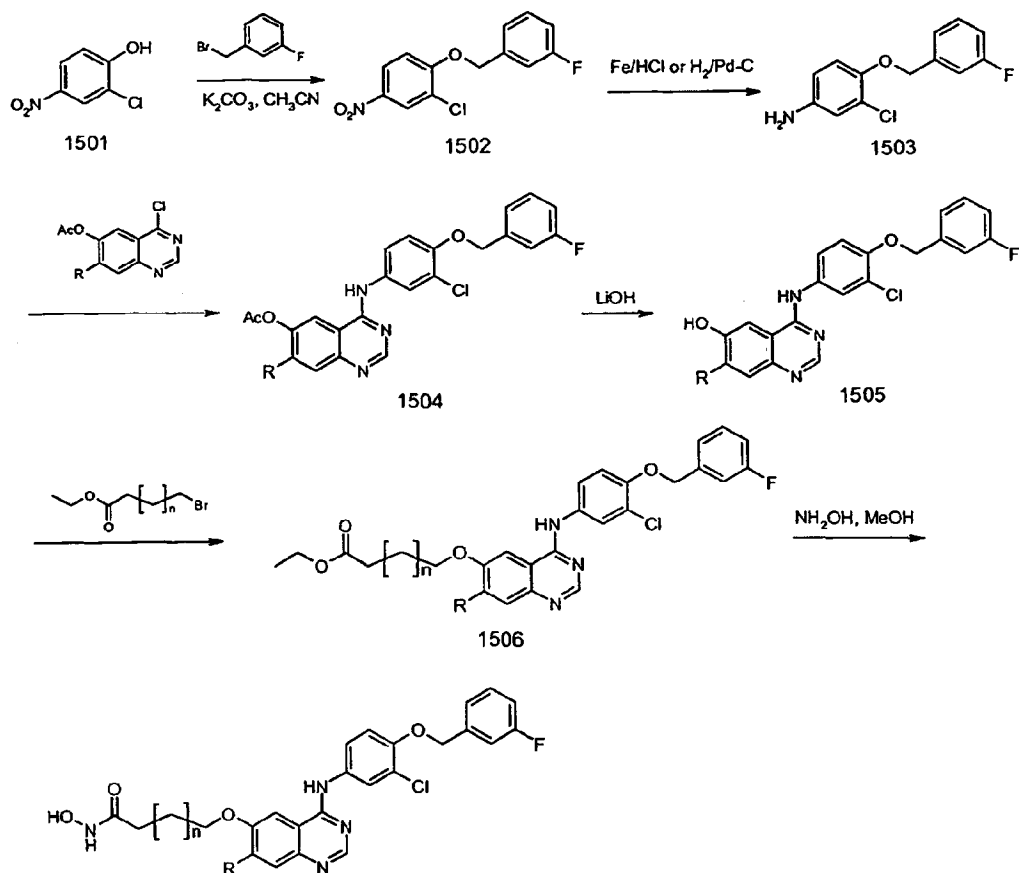
**Esquema 13**



## Esquema 14



## Esquema 15



## Ejemplos

Los compuestos y procedimientos de la presente invención se entenderán mejor en conexión con los siguientes ejemplos, que se pretende que sean sólo una ilustración y no limitantes del alcance de la invención. Diversos cambios y modificaciones a las realizaciones descritas serán evidentes para los expertos en la técnica, y tales cambios y modificaciones, que incluyen, sin limitación, los relacionados con las estructuras químicas, sustituyentes, derivados, formulaciones y/o métodos de la invención, se pueden preparar sin apartarse del espíritu de la invención y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo de Referencia 1: Preparación de 2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 1)

Etapa 1a. 6,7-Dimetoxiquinazolin-4(3H)-ona (Compuesto 0102)

Una mezcla de ácido metil-2-amino-4,5-dimetoxibenzoico 0101 (2,1 g, 10 mmol), formiato de amonio (0,63 g, 10 mmol) y formamida (7 ml) se agitó y se calentó a 190-200 °C durante 2 horas. Después la mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente. El precipitado se aisló, se lavó con agua y se secó para proporcionar el compuesto del título 0102 como un sólido marrón (1,8 g, 84,7%): LCMS: m/z 207 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 3,87 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 7,12 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 12,08 (s ancho, 1H).

Etapa 1b. 6-Hidroxi-7-metoxiquinazolin-4(3H)-ona (Compuesto 0103)

Se añadió en porciones 6,7-dimetoxiquinazolin-4(3H)-ona (0102) (10,3 g, 50 mmol) a ácido metanosulfónico agitado (68 ml). Después se añadió L-metionona (8,6 g, 57,5 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 150-160°C durante 5 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió sobre una mezcla (250 ml) de hielo y agua. La mezcla se neutralizó mediante la adición de disolución de hidróxido de sodio acuoso (40%). El precipitado se aisló, se lavó con agua y se secó para dar el compuesto del título 0103 como un sólido gris (10 g, bruto): LCMS: m/z 193 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 1c. Acetato de 3,4-dihidro-7-metoxi-4-oxoquinazolin-6-ilo (Compuesto 0104)

Una mezcla de 6-hidroxi-7-metoxiquinazolin-4(3H)-ona (0103) (10 g, bruta), anhídrido acético (100 ml) y piridina (8 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en una mezcla (250 ml) de hielo y agua. El precipitado se aisló y se secó para dar el producto del título 0104 como un sólido gris (5,8 g, 50% de rendimiento global de dos etapas): LCMS: m/z 235 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2,27 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 7,28 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 8,08 (d, 1H), 12,20 (s ancho, 1H).

## Etapa 1d. Acetato de 4-cloro-7-metoxiquinazolin-6-ilo (Compuesto 0105)

Una mezcla de acetato de 3,4-dihidro-7-metoxi-4-oxoquinazolin-6-ilo (0104) (2,0 g, 8,5 mmol) y tricloruro de fosforilo (20 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 3 horas. Cuando se obtuvo una disolución transparente, el tricloruro de fosforilo en exceso se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano (50 ml) y la capa orgánica se lavó con disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 ml×2) y salmuera (20 ml×1) y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0105 como un sólido amarillo (1,4 g, 65%): LCMS: m/z 249 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2,40 (s, 3H), 4,03 (s, 3H), 7,44 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 8,95 (s ancho, 1H).

## Etapa 1e. Hidrocloruro de acetato de 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo (Compuesto 0108)

Una mezcla de acetato de 4-cloro-7-metoxiquinazolin-6-ilo (0105) (1,3 g, 5,1 mmol) y 3-cloro-4-fluorobencenamina 0106 (1,5 g, 10,2 mmol) en isopropanol (45 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló. Después el sólido se secó para dar el compuesto del título 0108 como un sólido amarillo claro (1,6 g, 79%): LCMS: m/z 362 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 2,36 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 7,49 (s, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,72 (m, 1H), 8,02 (dd, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 11,4 (s ancho, 1H).

## Etapa 1f. 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0109)

Una mezcla del compuesto (0107) (1,41 g, 3,5 mmol), LiOH H<sub>2</sub>O (0,5 g, 11,7 mmol) en metanol (100 ml) y H<sub>2</sub>O (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La mezcla se neutralizó por adición de ácido acético diluido. El precipitado se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0109 como un sólido gris (1,06 g, 94%): LCMS: m/z 320 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 3,99 (s, 3H), 7,20 (s, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,81 (m, 1H), 8,20 (m, 1H), 8,46 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,68 (s, 1H).

## Etapa 1g. 2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)acetato de etilo (Compuesto 0110-1)

Una mezcla del compuesto 0109 (300 mg, 0,94 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (163 mg, 0,98 mmol) y carbonato de potasio (323 mg, 2,35 mmol) en N,N-dimetilformamida (6 ml) se agitó y se calentó a 40°C durante 30 minutos. El proceso de la reacción fue seguido por TLC. Se filtró la mezcla. La filtración se concentró a presión reducida. Los residuos se lavaron con éter dietílico y se secaron para dar el compuesto del título 0110-1 como un sólido amarillo (280 mg, 74%): LCMS: m/z 406 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1,23 (t, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,20 (q, 2H), 4,95 (s, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,44 (t, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,82 (s, 1H), 8,10 (dd, 1H), 8,51 (s, 1H), 9,54 (s, 1H).

## Etapa 1h. 2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 1)

A una disolución agitada de hidrocloruro de hidroxiamina (4,67 g, 67 mmol) en metanol (24 ml) a 0°C se añadió una disolución de hidróxido de potasio (5,61 g, 100 mmol) en metanol (14 ml). Después de la adición, se agitó la mezcla durante 30 minutos a 0°C, y se dejó reposar a baja temperatura. El precipitado resultante se aisló, y la disolución se preparó para dar hidroxiamina libre. La disolución de hidroxiamina recién preparada anterior (1,4 ml, 2,4 mmol) se puso en un matraz de 5 ml. Se añadió el compuesto 0110-1 (250 mg, 0,6 mmol) esta disolución y se agitó a 0°C durante 10 minutos, y se elevó hasta la temperatura ambiente. El proceso de la reacción fue seguido por TLC. La mezcla se neutralizó con ácido acético. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa. Para dar el compuesto del título 1 como un sólido gris (50 mg, 21%): LCMS: m/z 393 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 3,96 (s, 3H), 4,62 (s, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,86 (s, 1H), 8,10 (dd, 1H), 8,52 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 10,80 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 2: Preparación de 4-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxibutanamida (Compuesto 3)

## Etapa 2a. 4-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)butanoato de etilo (Compuesto 0110-3)

El compuesto del título 0110-3 se preparó como un sólido amarillo (220 mg, 80,5%) a partir del compuesto 0109 de la etapa 1f (200 mg, 0,63 mmol) y 4-bromobutirato de etilo (135 mg, 0,69 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (ejemplo 1): LCMS: m/z 434 [M+1]<sup>+</sup>; NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,36 (t, 3H), 2,23 (m, 2H), 2,57 (t, 2H), 4,03 (s, 3H), 4,32 (m, 4H), 7,15 (t, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,87 (s, 1H), 8,00 (m, 2H), 8,15 (s ancho, 1H), 8,57 (s, 1H).

## Etapa 2b. 4-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiбутanamida (Compuesto 3)

El compuesto del título 3 se preparó como un sólido gris (25 mg, 12%) a partir del compuesto 0110-3 (200 mg, 0,23 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 421 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO): δ 2,06 (m, 2H), 2,22 (t, 2H), 3,95 (s, 3H), 4,15 (t, 2H), 7,21 (s, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,83 (s, 2H), 8,14 (dd, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 10,50 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 3: Preparación de 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 5)

## Etapa 3a. 6-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (Compuesto 0110-5)

El compuesto del título 0110-5 se preparó como un sólido amarillo (510 mg, 68%) a partir del compuesto 0109 de la etapa 1f (510 mg, 1,6 mmol) y 6-bromohexanoato de etilo (430 mg, 1,9 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 462 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,24 (t, 3H), 1,55 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,91 (m, 2H), 2,38 (m, 2H), 3,97 (s, 3H), 4,13 (m, 4H), 7,15 (t, 1H), 7,25 (m, 2H), 7,60 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 7,91 (dd, 1H), 8,61 (s, 1H).

## Etapa 3b. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 5)

El compuesto del título 5 se preparó como un sólido gris (100 mg, 34%) a partir del compuesto 0110-5 (305 mg, 0,66 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): p.f. 206,6~207,1 °C (desc); LCMS: m/z 449 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1,44 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,82 (m, 2H), 1,99 (t, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,12 (t, 2H), 7,19 (s, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,79 (m, 2H), 8,12 (dd, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 10,37 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 4: Preparación de 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 6)

## Etapa 4a. 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (compuesto 0110-6)

El compuesto del título 0110-6 se preparó como un sólido amarillo (390 mg, 53%) a partir del compuesto 0109 de la etapa 1f (512 mg, 1,6 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (438 mg, 1,8 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 476 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,24 (t, 3H), 1,43 (m, 4H), 1,66 (m, 2H), 1,88 (m, 2H), 2,32 (t, 2H), 3,97 (s, 3H), 4,07 (t, 2H), 4,12 (q, 2H), 7,15 (t, 1H), 7,23 (t, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,87 (dd, 1H), 8,65 (s, 1H).

## Etapa 4b. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (compuesto 6)

El compuesto del título 6 se preparó como un sólido gris (80 mg, 25%) a partir del compuesto 0110-6 (323 mg, 0,68 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): p.f. 180,8~182,3 °C (desc); LCMS: m/z 463 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1,34 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,81 (m, 2H), 1,96 (t, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,11 (t, 2H), 7,18 (s, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,78 (m, 2H), 8,12 (dd, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 5: Preparación de 2-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 7)

## Etapa 5a. Hidrocloruro de acetato de 4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo (Compuesto 0111)

Una mezcla de acetato de 4-cloro-7-metoxiquinazolin-6-ilo (0105) (2,6 g, 10,2 mmol) y 3-etinilbencenamida (0107) (2,4 g, 20,5 mmol) en isopropanol (100 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 3 horas. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente. El precipitado se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0111 como un sólido amarillo (2,6 g, 68%): LCMS: m/z 334 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 2,39 (s, 3H), 3,17 (s, 1H), 3,98 (s, 3H), 7,35 (m, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,90 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 10,99 (s ancho, 1H). Etapa 5b. 4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0112)

Una mezcla del compuesto 0111 (2,0g, 5,4 mmol) y LiOH H<sub>2</sub>O (0,75 g, 17,9 mmol) en metanol (100 ml) y H<sub>2</sub>O (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La mezcla se neutralizó por adición de ácido acético diluido. El precipitado se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0112 como un sólido gris (1,52 g, 96%): LCMS: m/z 292 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 3,17 (s, 1H), 3,98 (s, 3H), 7,18 (d, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,37 (t, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 8,04 (m, 1H), 8,47 (s, 1H), 9,41 (s, 1H), 9,68 (s ancho, 1H).

## Etapa 5c. 2-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)acetato de etilo (Compuesto 0113-7)

El compuesto del título 0113-7 se preparó como un sólido amarillo (450 mg, 69%) a partir del compuesto 0112 (500 mg, 1,72 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (300 mg, 1,8 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 378 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1,22 (t, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,21 (q, 2H), 4,97 (t, 2H), 7,22 (d, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,86 (d, 1H), 7,96 (s, 1H), 8,51 (s, 1H).



## Etapa 5d. 2-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 7)

5 El compuesto del título 7 se preparó como un sólido gris (100 mg, 23%) a partir del compuesto 0113-7 (448 mg, 1,2 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 365 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 4,00 (s, 3H), 4,26 (s, 1H), 4,65 (s, 2H), 7,27 (s, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 9,17 (s ancho, 1H), 10,60 (s, 1H), 10,85 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 6: Preparación de 4-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxibutanamida (Compuesto 9)

## Etapa 6a. 4-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)butanoato de etilo (Compuesto 0113-9)

10 El compuesto del título 0113-9 se preparó como un sólido amarillo (438 mg, 59%) a partir del compuesto 0112 (500 mg, 1,72 mmol) y 4-bromobutirato de etilo (349 mg, 1,8 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 406 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,37 (t, 3H), 2,34 (m, 2H), 2,56 (t, 2H), 3,07 (s, 1H), 4,03 (s, 3H), 4,32 (m, 4H), 7,21 (m, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,36 (t, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,97 (m, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,28 (m, 1H), 8,70 (s, 1H). Etapa 6b. 4-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxibutanamida (Compuesto 9)

15 El compuesto del título 9 se preparó como un sólido gris (60 mg, 31%) a partir del compuesto 0113-9 (200 mg, 0,49 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 393 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 2,06 (m, 2H), 2,22 (t, 2H), 3,30 (s, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,16 (t, 2H), 7,19 (m, 2H), 7,40 (t, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,91 (d, 1H), 8,02 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 10,49 (s, 1H).

20 Ejemplo de Referencia 7: Preparación de 6-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 11)

## Etapa 7a. 6-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (Compuesto 0113-11)

25 El compuesto del título 0113-11 se preparó como un sólido amarillo (543 mg, 73%) a partir del compuesto 0112 de la etapa 5b (500 mg, 1,72 mmol) y 6-bromohexanoato de etilo (401 mg, 1,8 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: m/z 434 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,24 (t, 3H), 1,53 (m, 2H), 1,72 (m, 2H), 1,90 (m, 2H), 2,37 (t, 3H), 3,08 (s, 1H), 3,97 (s, 3H), 4,10 (m, 4H), 7,19 (s, 1H), 7,25 (m, 2H), 7,34 (t, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,84 (m, 1H), 8,67 (s, 1H).

## Etapa 7b. 6-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 11)

30 El compuesto del título 11 se preparó como un sólido gris (110 mg, 41%) a partir del compuesto 0113-11 (275 mg, 0,63 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): p.f. 193,4~195,8 °C (desc); LCMS: m/z 421 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1,44 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,99 (t, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,13 (t, 2H), 4,19 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,40 (t, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 9,47 (s, 1H), 10,39 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 8: Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxieptanamida (Compuesto 12)

## Etapa 8a. 6-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0113-12)

40 El compuesto del título 0113-12 se preparó como un sólido amarillo (305 mg, 84%) a partir del compuesto 0112 de la etapa 5b (247 mg, 0,85 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (211 mg, 0,89 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: 448 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,15 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,33 - 1,60 (m, 6H), 1,81 (m, 2H), 2,28 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,03 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,12 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,18 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,39 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 9,44 (s, 1H).

## Etapa 8b. 7-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxieptanamida (Compuesto 12)

45 El compuesto del título 12 se preparó como un sólido gris (100 mg, 41%) a partir del compuesto 0113-12 (250 mg, 0,56 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): p.f. 171,8~177,2 °C (desc); LCMS: 435 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,36 (m, 2H), 1,52 (m, 4H), 1,83 (m, 2H), 1,97 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 4,14 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,20 (s, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,41 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,90 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 10,35 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 8 (MÉTODO 2): Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxieptanamida (Compuesto 12)

50

## Etapa 8a'. 3-hidroxi-4-metoxibenzoato de etilo (Compuesto 0402-12)

A una disolución de 3, 4-dihidroxibenzoato de etilo 0401 (12,52 g, 68,7 mmol) en DMF (50 mL) se añadió carbonato de potasio (9,48 g, 68,7 mmol). Después de agitar la mezcla durante 15 minutos, se añadió gota a gota una disolución de yodometano (9,755 g, 68,7 mmol) en DMF (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 24 horas. Después de la reacción se filtró la mezcla, y se concentró el filtrado. El residuo se disolvió en diclorometano y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a vacío para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto del título 0402-12 como un sólido blanco (7,1 g, 53%): LCMS: 197 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,29 (t, J = 6,6 Hz, 3H), 3,83 (s, 3H), 4,25 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 7,00 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,43 (dd, J = 8,4 Hz, 2,1 Hz, 1H), 9,36 (s, 1H).

## Etapa 8b. 3-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-metoxibenzoato de etilo (Compuesto 0403-12)

Una mezcla del compuesto 0402-12 (6,34 g, 32,3 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (7,66 g, 32,3 mmol) y carbonato de potasio (13,38 g, 96,9 mmol) en DMF (80 mL) se agitó a 60°C durante 3 horas. Después de la reacción se filtró la mezcla. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se disolvió en diclorometano y se lavó con salmuera dos veces. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el producto del título 0403-12 como un sólido blanco (9,87 g, 86,7%): LCMS: 353 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,17 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,31 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,39 (m, 4H), 1,54 (m, 2H), 1,72 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,98 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,06 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 4,29 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 8,4 Hz, 1,8 Hz, 1H).

## Etapa 8c. 5-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-metoxi-2-nitrobenzoato de etilo (Compuesto 0404-12)

Se disolvió el compuesto 0403-12 (9,87 g, 28,0 mmol) en ácido acético (20 mL) y se agitó a 20°C. Se añadió lentamente gota a gota ácido nítrico fumante (17,66 g, 280,0 mmol). La mezcla se agitó a 20°C durante 1 hora. Después de la reacción se vertió la mezcla en hielo-agua y se extrajo con diclorometano dos veces. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el producto del título 0404-12 como un sólido amarillo (10,75 g, 96,4%): LCMS: 398 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,17 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,27 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,38 (m, 4H), 1,53 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,91 (s, 3H), 4,03 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,30 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 7,29 (s, 1H), 7,63 (s, 1H).

## Etapa 8d'. 2-amino-5-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-metoxibenzoato de etilo (Compuesto 0405-12)

Una mezcla de 0404-12 (10,75 g 27,0 mmol), etanol (120 mL), agua (40 mL) y cloruro de hidrógeno (4 mL) se agitó hasta formar una disolución transparente. Se añadió el polvo de hierro (15,16 g, 27,0 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a reflujo durante 30 min, y después se enfrió hasta la temperatura ambiente, se ajustó el pH a 8 con disolución de hidróxido de sodio al 10%, y se filtró. El filtrado se concentró para retirar el etanol y se extrajo con diclorometano dos veces. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el producto del título 0405-12 como un sólido amarillo (8,71 g, 87,8%): LCMS: 368 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,17 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,28 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,37 (m, 4H), 1,53 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,78 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 4,06 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,22 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 6,35 (s, 1H), 6,44 (s, 2H), 7,15 (s, 1H).

## Etapa 8e'. 7-(7-metoxi-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0406-12)

Una mezcla del compuesto 0405-12 (8,71 g, 23,7 mmol), formiato de amonio (1,48 g, 23,7 mmol) y formamida (40 mL) se agitó a 180 °C durante 3 horas. Después de la reacción se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente. La formamida se retiró a presión reducida, y el residuo se disolvió en diclorometano y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el producto del título 0406-12 como un sólido blanco pálido (8,18 g, 99%): LCMS: 349 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,17 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,38 (m, 4H), 1,55 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,05 (m, 4H), 7,13 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,97 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 12,07 (s, 1H).

## Etapa 8f. 7-(4-Cloro-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0407-12)

Una mezcla del producto 0406-12 (8,18 g, 23,5 mmol) y tricloruro de fosforilo (50 mL) se agitó a reflujo durante 4 horas. Después de la reacción el tricloruro de fosforilo en exceso se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano y se lavó con agua, disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el producto del título 0407-12 como un sólido amarillo (5,93 g, 69,7%): LCMS: 367 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,17 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,38 (m, 4H), 1,54 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 2,30 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,02 (s, 3H), 4,06 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 4,18 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 7,37 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 8,87 (s, 1H).

Etapa 8g'. 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0408-12)

Una mezcla del producto 0407-12 (5,93 g, 16,4 mmol) y 3-etinilbencenamina (1,92 g, 16,4 mmol) en isopropanol (80 mL) se agitó a reflujo durante 4 horas. Después de la reacción se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló, se lavó con isopropanol y éter, y se secó para dar el compuesto del título 0408-12 como un sólido amarillo (4,93 g, 67,1%): LCMS: 448 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,16 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,36 - 1,59 (m, 6H), 1,80 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,04 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 4,13 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,19 (s, 1H), 7,20 (m, 2H), 7,39 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 9,45 (s, 1H).

Etapa 8h'. 7-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 12)

La disolución de hidroxiamina recién preparada anterior (30 mL, 110 mmol) se puso en un matraz de 50 mL. Se añadió a esta disolución el compuesto 0408-12 (4,93 g, 11,0 mmol) y se agitó a 25°C durante 24 horas. Después de la reacción se neutralizó la mezcla con ácido acético, y el precipitado resultante se aisló, se lavó con agua, y se secó para dar el compuesto del título 12 como un sólido blanco (3,99 g, 83,6%): p.f. 174,1~177,2 °C. LCMS: 435 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,36 (m, 2H), 1,52 (m, 4H), 1,83 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 4,14 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,20 (s, 1H), 7,21 (m, 2H), 7,41 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,90 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 10,35 (s, 1H).

Purificación por cristalización:

A un matraz de 4 cuellos de 30 L, se añadió el producto bruto (1,3 kg, KF = 11%), seguido de THF (26 L). La disolución se calentó a reflujo hasta una disolución casi transparente. La disolución se filtró a 45-55°C, y el filtrado se cargó en un reactor de 30 L, con velocidad de agitación a 350 (r.p.m.), IT= 40-42°C. Se enfrió gradualmente la disolución hasta 30°C (durante 6-8 horas). Aparecieron sólidos a 32-33°C, se agitó a esta temperatura durante 6-8 horas. Después se enfrió la disolución hasta 15-25°C (durante 4-5 horas). Los sólidos se recogieron por filtración, y se enjuagaron con THF (5 L). Los sólidos húmedos se secaron a vacío a 35-40°C durante 15 h, para dar el compuesto cristalino 12 (0,9 Kg, 2,07 mol. Rendimiento 69,2%).

Nota (después del secado a vacío, hay siempre aproximadamente 10% de THF contenido en el compuesto, amasar en acetato de etilo retirará el THF).

Amasado en acetato de etilo para retirar el THF:

Los sólidos anteriores (0,9 kg) se cargaron en un matraz de 4 cuellos de 30 L, se añadió acetato de etilo (9 ml), se agitó la suspensión a 25-30°C durante 1 hora, después se filtró, y se enjuagó con acetato de etilo (2 x 2 L). Los sólidos húmedos se secaron a vacío a 60-70°C durante 20 h para dar el compuesto cristalino 12 (0,86 kg). La GC comprobó que no contenía THF.

Ejemplo de Referencia 9: Preparación de 2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 13)

Etapa 9a. 6-Hidroxiquinazolin-4(3H)-ona (compuesto 0202)

Una disolución de ácido 2-amino-5-hidroxibenzoico 0201 (30,6 g, 0,2 mol) en formamida se agitó y se calentó a 190 °C durante 0,5 h. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente. El precipitado se aisló, se lavó con éter y se secó para obtener el compuesto del título 0202 (32 g, sólido marrón, rendimiento: 99%): LC-MS m/z 163 [M+1],

<sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 7,25 (dd, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,88 (s, 1H).

Etapa 9b. Acetato de 3,4-dihidro-4-oxoquinazolin-6-ilo (Compuesto 0203)

Una mezcla del compuesto 0202 (30,0 g, 0,185 mol) y piridina (35 ml) en anhídrido acético (275 ml) se agitó y se calentó a 100 °C durante 2 horas. La reacción se vertió en una mezcla de hielo y agua (500 ml). El precipitado se aisló, se lavó con agua y se secó para obtener el compuesto del título 0203 (24 g, sólido blanco pálido, rendimiento: 61%): LC-MS m/z 205 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 2,32 (s, 3H), 7,50 (dd, 1H), 7,80 (d, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,02 (s, 1H).

Etapa 9c. Acetato de 4-cloroquinazolin-6-ilo (Compuesto 0204)

Una mezcla del compuesto 0203 (20,0 g, 0,1 mol) en POCl<sub>3</sub> (150 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 2 horas. Se evaporó la reacción y el residuo se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La mezcla se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, elución: 1:2 = acetato de etilo/petróleo) para obtener el compuesto del título 0204 (7,5 g, sólido blanco, rendimiento: 35%): LC-MS m/z 223 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2,40 (s, 3H), 7,74 (dd, 1H), 8,00 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 9,05 (s, 1H).

## Etapa 9d. Acetato de 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo (Compuesto 0207)

Una mezcla de 0204 (1,0 g, 4,5 mmol) y 3-cloro-4-fluorobencenammina 0205 (0,7 g, 5,0 mmol) en isopropanol (45 ml) se agitó y se calentó a 90°C durante 1 hora. Se enfrió la reacción hasta la temperatura ambiente y se aisló el precipitado. El sólido se lavó a su vez con isopropanol y metanol, se secó para proporcionar el compuesto del título 0207 (1,3 g, sólido amarillo pálido, rendimiento: 87%): LC-MS m/z 332 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 2,37 (s, 3H), 7,54 (t, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,94 (dd, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,02 (m, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,95 (s, 1H).

## Etapa 9e. 4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0209)

Una mezcla de 0207 (0,8 g, 2,6 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (0,13 g, 3,2 mmol) en metanol (10 ml)/agua (15 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se ajustó el pH a 4 con ácido acético y se filtró. El sólido amarillo recogido se lavó con agua y se secó para obtener el compuesto del título 0209 (0,6 g, sólido amarillo, rendimiento: 88%): LC-MS m/z 290 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 7,42 (s, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,86 (m, 1H), 8,24 (q, 1H), 8,48 (s, 1H), 9,61 (s, 1H).

## Etapa 9f. 2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)acetato de etilo (Compuesto 0210-13)

Una mezcla de 0209 (0,2 g, 0,77 mmol), 3-bromopropionato de etilo (0,14 g, 0,85 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,8 g, 5,8 mmol) en DMF (15 ml) se agitó y se calentó a 80 °C durante 2 horas. Se filtró la reacción y el filtrado se evaporó. El sólido resultante se lavó con éter para obtener el compuesto del título 0210-13 (0,2 g, sólido amarillo, rendimiento: 75%): p.f. 161-163 °C; LC-MS m/z 376 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,20 (t, 3H), 4,20 (q, 2H), 4,96 (s, 2H), 7,45 (t, 1H), 7,55 (dd, 1H), 7,78 (m, 2H), 7,94 (d, 1H), 8,16 (dd, 1H), 8,54 (s, 1H), 9,69 (s, 1H).

## Etapa 9g. 2-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)N-hidroxiacetamida (Compuesto 13)

A una disolución agitada de hidrocloreuro de hidroxiamina (4,67 g, 67 mmol) en metanol (24 ml) a 0°C se añadió una disolución de hidróxido de potasio (5,61 g, 100 mmol) en metanol (14 ml). Después de la adición, se agitó la mezcla durante 30 minutos a 0°C, y se dejó reposar a baja temperatura. El precipitado resultante se aisló, y la disolución se preparó para dar hidroxiamina libre. Se recoge la disolución anterior (1,4 ml, 2,4 mmol) en un matraz de 5 ml. Se añadió el compuesto 0210-13 (0,1 g, 0,29 mmol) a esta disolución y se agitó a 0 °C durante 10 minutos, y después se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. El proceso de la reacción fue controlado por TLC. Se ajustó la mezcla a pH 6 con ácido acético y después se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa eluida con metanol/agua. La banda que contenía el producto se recogió. Se evaporó el disolvente para obtener el compuesto del título 13 (30 mg, sólido amarillo, rendimiento: 29%): LC-MS m/z 363 [M+1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 4,64 (s, 2H), 7,46 (t, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,79 (d, 2H), 7,7 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 9,02 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 10,96 (s, 1H).

## Ejemplo de Referencia 10: Preparación de 4-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)N-hidroxibutanamida (Compuesto 15)

El compuesto del título 15 se preparó (20 mg) a partir del compuesto 0209 de la etapa 9e y 4-bromobutanoato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): p.f. 128-132 °C; LC-MS m/z 391 [M+ 1]; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO+D<sub>2</sub>O) δ 2,05 (m, 2H), 2,24 (t, 2H), 4,21 (t, 2H), 7,46 (t, 1H), 7,54 (dd, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,82 (m, 1H), 7,99 (m, 1H), 8,43 (s, 1H).

## Ejemplo de Referencia 11: Preparación de 6-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)N-hidroxihexanamida (Compuesto 17)

## Etapa 11a. 6-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)hexanoato de etilo (compuesto 0210-17)

El compuesto del título 0210-17 (0,2 g) se preparó a partir del compuesto 0209 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ol y 6-bromohexanoato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 433 [M+1], <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,13 (t, 3H), 1,45 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,76 (m, 2H), 2,30 (t, 2H), 4,05 (q, 2H), 4,11 (t, 2H), 7,41 (d, 1H), 7,45 (dd, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 8,13 (dd, 1H), 8,48 (s, 1H).

## Etapa 11b. 6-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)N-hidroxihexanamida (Compuesto 17)

El compuesto del título 17 (30 mg) se preparó a partir del compuesto 0210-17 usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LC-MS [M+1] 419 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,28 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,73 (m, 2H), 2,05 (t, 2H), 4,17 (t, 2H), 7,25 (d, 1H), 7,47 (t, 1H), 7,55 (dd, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,73 (m, 1H), 8,05 (m, 1H), 8,48 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 12: Preparación de 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ilo)N-hidroxihexanamida (Compuesto 18)

Etapa 12a. 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0210-18)

5 El compuesto del título 0210-18 (0,2 g) se preparó a partir del compuesto 2-6 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ol (0209) de la etapa 9e y 7-bromoheptanoato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 420 [M+1], <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,13 (t, 3H), 1,36 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 4,05 (q, 2H), 4,11 (t, 2H), 7,41 (d, 1H), 7,47 (dd, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,84 (m, 1H), 8,13 (dd, 1H), 8,50 (s, 1H).

Etapa 12b. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 18)

10 El compuesto del título 18 (20 mg) se preparó a partir del compuesto 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)-heptanoato de etilo (0210-18) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 433 [M+1], p.f. 145-149°C, <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,32 (m, 2H), 1,47 (m, 4H), 1,88 (m, 2H), 1,94 (t, 2H), 4,12 (t, 2H), 7,43 (t, 1H), 7,51 (dd, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,86 (d, 1H), 8,15 (dd, 1H), 8,51 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 13: Preparación de 2-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 19)

Etapa 13a. Acetato de 4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-ilo (Compuesto 0208)

15 El compuesto del título 0208 (0,8 g, rendimiento: 73%) se preparó a partir de acetato de 4-cloroquinazolin-6-ilo 0204 y 3-etinilbencenammina 0206 usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0207 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 304 [M+1], <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 52,36 (s, 3H), 4,26 (s, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,53 (t, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,95 (m, 2H), 8,02 (d, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,96 (s, 1H).

Etapa 13b. 4-(3-Etinilfenilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0211)

20 El compuesto del título 0211 (0,6 g, rendimiento: 88%) se preparó usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0209 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 262 [M+1], <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 4,17 (s, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,36 (t, 1H), 7,43 (dd, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,82 (d, 1H), 7,95 (d, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,48 (s, 1H).

Etapa 13c. 2-(4-(3-Etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)acetato de etilo (Compuesto 0212-19)

25 El compuesto del título 0212-19 (0,2 g, rendimiento: 75%) se preparó a partir de 4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-ol 0211 y 2-bromoacetato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 322 [M+1], p.f. 181-182°C <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,28 (t, 3H), 4,20 (q, 2H), 4,25 (s, 1H), 4,32 (s, 2H), 7,23 (d, 1H), 7,41 (t, 1H), 7,57 (dd, 1H), 7,74 (d, 1H), 7,91 (d, 1H), 7,95 (m, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,48 (s, 1H).

Etapa 13d. 2-(4-(3-Etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiacetamida (Compuesto 19)

30 El compuesto del título 12 (40 mg) se preparó a partir de 2-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)acetato de etilo 0212-19 usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 335 [M+1], p.f.: 189-191°C, <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 4,27 (s, 1H), 4,69 (s, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,76 (m, 2H), 7,83 (m, 2H), 7,88 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,82 (m, 1H).

Ejemplo de Referencia 14: Preparación de 4-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxibutanamida (Compuesto 21)

35 Etapa 14a. 4-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)butanoato de etilo (Compuesto 0212-21)

El compuesto del título 0212-21 (0,2 g, 78%) se preparó a partir del compuesto 4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-ol (0211) y 4-bromobutanoato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 376 [M+1], <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,12 (t, 3H), 1,79 (m, 2H), 2,32 (t, 2H), 4,04 (q, 2H), 4,16 (t, 2H), 4,21 (s, 1H), 7,02 (dd, 1H), 7,21 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,70 (t, 1H), 7,88 (s, 1H), 8,00 (m, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,65 (s, 1H).

40 Etapa 14b. 4-(4-(3-Etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxibutanamida (Compuesto 21)

El compuesto del título 21 (50 mg) se preparó a partir de 4-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)butanoato de etilo (0212-21) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 363 [M+1], p.f. 182-186°C, <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 2,02 (m, 2H), 2,20 (t, 2H), 4,16 (t, 2H), 4,20 (s, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,94 (m, 2H), 8,06 (s, 1H), 8,53 (s, 1H).

45 Ejemplo de Referencia 15: Preparación de 6-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 23)

Etapa 15a. 6-(4-(3-Etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (Compuesto 0212-23)

50 El compuesto del título, 6-(4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (0212-23) (0,3 g, 64%) se preparó a partir del compuesto 4-(3-etinilfenilamino)quinazolin-6-ol (0211) y 6-bromohexanoato de etilo usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 404 [M+1].

Etapa 15b. 6-(4-(3-Etiniifenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxihexanamida (Compuesto 23)

5 El compuesto del título 23 (50 mg) se preparó a partir de 6-(4-(3-etiniifenilamino)quinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (0212-23) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LC-MS m/z 391 [M+1]<sup>+</sup>, p.f. 176-182 °C, <sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ 1,46 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 2,00 (t, 2H), 4,15 (t, 2H), 4,20 (s, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,92 (m, 2H), 8,04 (s, 1H), 8,53 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 16: 4-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiбутanamida (Compuesto 4)

Etapa 16a. 4-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)butanoato de etilo (Compuesto 0110-4)

10 El compuesto del título 0110-4 se preparó como un sólido amarillo (600 mg, 88,4%) a partir del compuesto 0109 de la etapa 1f (500 mg, 1,56 mmol) y 5-bromopentanoato de metilo (320 mg, 1,64 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: 434 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,80-1,97 (m, 4H), 2,48 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,67 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,18 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 7,14 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,66~7,11 (m, 1H), 7,96 (dd, J = 6,9 Hz, 2,7Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,66 (s, 1H).

Etapa 16b. 4-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiбутanamida (Compuesto 4)

15 El compuesto del título 4 se preparó como un sólido blanco (140 mg, 35%) a partir del compuesto 0110-4 (400 mg, 0,92 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: 435 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,69~1,84 (m, 4H), 2,07 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,94 (s, 3H), 4,15 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 7,21 (s, 1H), 7,45 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,78~7,83 (m, 2H), 8,13 (dd, J = 6,9 Hz, 2,4 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 9,54 (s, 1H), 10,41 (s, 1H).

20 Ejemplo de Referencia 17: 5-(4-(3-Etiniifenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiپentanamida (Compuesto 10)

Etapa 17a. 5-(4-(3-etiniifenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)pentanoato de metilo (Compuesto 0113-10)

25 El compuesto del título 0113-10 se preparó como un sólido amarillo (500 mg, 72%) a partir del compuesto 0112 (500 mg, 1,7 mmol) y 5-bromopentanoato de metilo (211 mg, 0,89 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: 406 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 17b. 5-(4-(3-Etiniifenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiپentanamida (Compuesto 10)

30 El compuesto del título 10 se preparó como un sólido blanco (200 mg, 40%) a partir del compuesto 0113-10 (500 mg, 1,23 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: 407 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,71~1,85 (m, 4H), 2,07 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,16 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,20(s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,41 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,90 (dd, J = 8,4 Hz, 1,2 Hz, 1H), 8,00 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,72 (s, 1 H), 9,48 (s, 1H), 10,40 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 18: Preparación de 5-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiپentanamida (Compuesto 16)

Etapa 18a. 5-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)pentanoato de etilo (compuesto 0210-16)

35 El compuesto del título 0210-16 (0,2 g, 68%) se preparó a partir del compuesto 0209 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-ol (0,2 g, 0,69 mmol) y 5-bromopentanoato de metilo (0,14 g, 0,69 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LCMS 376 [M+1]<sup>+</sup>. Etapa 18b. 5-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiپentanamida (Compuesto 16).

40 El compuesto del título 16 (24 mg, 67%) se preparó a partir del compuesto 0210-16 (37 mg, 0,09 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): p.f.: 85,9 °C; LCMS 405 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,7 (m, 4H), 2,04 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 4,14 (t, J = 6 Hz, 2H), 7,44 (t, J = 9 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 9 Hz, J = 2,4 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,82 (m, 1H), 7,88 (d, J = 2,4, 1H) 8,16 (dd, J = 6,9 Hz, J = 2,7 Hz 1H), 8,52 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 10,38 (s, 1H).

45 Ejemplo de Referencia 19: Preparación de 7-(4-(3-etiniifenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 24)

Etapa 19a. 7-(4-(3-etiniifenilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0212-24)

50 El compuesto del título 0212-24 (0,21 g, 58%) se preparó a partir del compuesto 4-(3-etiniifenilamino)quinazolin-6-ol (0211) (0,23 g, 0,86 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (0,20 g, 0,86 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0210-13 (Ejemplo 9): LCMS 418 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 19b. 7-(4-(3-Etiniifenilamino)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 24)

El compuesto del título 24 (50 mg, 42%) se preparó a partir del compuesto 0212-24 (123 mg, 0,29 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 13 (Ejemplo 9): LCMS 405 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,44 (m, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,67 (m, 2H), 2,11 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,50 (s, 1H), 4,17 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 7,28(d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,78 (dd, J = 21,3 Hz, J = 7,8 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 8,45 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 20: Ejemplo 1: Síntesis de 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 30)

## Etapa 20a. 3-hidroxi-4-(2-metoxietoxi)benzoato de etilo (Compuesto 0402-30)

A una disolución de 0401 (1,82 g, 10,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (20 mL) se añadió carbonato de potasio (1,38 g, 10,0 mmol). La mezcla se agitó durante 15 minutos y después se añadió lentamente gota a gota una disolución de 4-metilbencenosulfonato de 2-metoxietilo (2,30 g, 10,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (5 mL). La mezcla se agitó 48 horas a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL), después la capa orgánica se lavó con salmuera (20 mL×3) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0402-30 como un sólido blanco (1,2 g, 50%): LCMS: 241 [M+1]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,26 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 3,65 (m, J = 1,5 Hz, 2H), 4,11 (m, J = 4,5 Hz, 2H), 4,21 (m, J = 4,5 Hz, 2H), 7,00 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,37 (m, J = 2 Hz, 2H), 9,40 (s, 1H).

## Etapa 20b. 3-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-(2-metoxietoxi)benzoato de etilo (Compuesto 0403-30)

El compuesto 0402-30 (204,0 mg, 0,85 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (201,0 mg, 0,85 mmol) y carbonato de potasio (353,0 mg, 2,50 mmol) en N,N-dimetilformamida (5 mL) se agitaron a 60 °C durante 3 horas. Se filtró la mezcla. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL), después la capa orgánica se lavó con salmuera (20 mL×3) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0403-30 como un sólido amarillo (325 mg, 96%): LCMS: 397 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 20c. 5-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-(2-metoxietoxi)-2-nitrobenzoato de etilo (Compuesto 0404-30)

El compuesto 0403-30 (325,0 mg, 0,82 mmol) se disolvió en ácido acético (2 mL) y se agitó a temperatura ambiente. Después se añadió lentamente gota a gota ácido nítrico fumante (0,39 g, 6,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se vertió en hielo-agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (20 mL×2). La capa orgánica combinada se lavó con disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (10 mL×3) y salmuera (10 mL×3) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0404-30 como un aceite amarillo (330 mg, 100%): LCMS: 442 [M+1]<sup>+</sup>. Etapa 20d. 2-amino-5-(7-etoxi-7-oxoheptiloxi)-4-(2-metoxietoxi)benzoato de etilo (Compuesto 0405-30)

Una mezcla de 0404-30 (370,0 mg, 0,82 mmol), etanol (4,4 mL), agua (3 mL) y cloruro de hidrógeno (0,08 mL) se agitó para formar una disolución transparente. Se añadió el polvo de hierro (459,0 mg, 8,2 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 30 minutos y se enfrió hasta la temperatura ambiente, se ajustó el pH a 8 con disolución de hidróxido de sodio al 10% en baño de hielo-agua. Se filtró la mezcla y el filtrado se concentró para retirar el etanol, y después se extrajo con acetato de etilo (20 mL×2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL×3) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0405-30 como un aceite amarillo (315 mg, 93%): LCMS: 412 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 20e. 7-(7-(2-metoxietoxi)-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0406-30)

Una mezcla del compuesto 0405-30 (315,0 mg, 0,76 mmol), formiato de amonio (48,0 mg, 0,76 mmol) y formamida (2,46 mL) se agitó a 190 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente. La formamida se retiró a presión reducida, y el residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL×5) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0406-30 como un sólido blanco (235 mg, 98%): LCMS: 393 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 20f. 7-(4-cloro-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0407-30)

Una mezcla del producto 0406-30 (235,0 mg, 0,6 mmol) y tricloruro de fosforilo (3 mL) se agitó a reflujo durante 4 horas. Cuando se obtuvo una disolución transparente, el tricloruro de fosforilo en exceso se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL) y la capa orgánica se lavó a su vez con agua (10 mL×2), disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (10 mL×2) y salmuera (20 mL×1), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0407-30 como un sólido amarillo (233 mg, 94%): LCMS: 411 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 20g. 7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)-quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0408-30)

Una mezcla del producto 0407-30 (117,0 mg, 0,28 mmol) y 3-cloro-4-fluorobencenammina (50,0 mg, 0,34 mmol) en isopropanol (3 mL) se agitó a reflujo durante una noche. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y el

precipitado resultante se aisló, se lavó con isopropanol y éter. Después se secó el sólido para dar el compuesto del título 0408-30 como un sólido amarillo (102 mg, 70%): LCMS: 520 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 20h. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 30)

- 5 La disolución de hidroxiamina recién preparada (3 mL, 2,0 mmol) se puso en un matraz de 25 mL. Se añadió el compuesto 408-30 (102,0 mg, 0,2 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se neutralizó la mezcla con ácido acético/metanol. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 30 como un sólido amarillo (85 mg, 84%): LCMS: 507 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,33 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,79 (s, 2H), 1,94 (t, 2H), 3,29 (s, 3H), 3,72 (s, 2H), 4,11 (s, 2H), 4,25 (s, 2H), 7,19 (s, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,79 (s, 1H), 8,10 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 9,52 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 21: Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 36)

Etapa 21a. 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0408-36)

- 15 Una mezcla del producto 0407-30 (102,0 mg, 0,25 mmol) y 3-etinilbencenamida (35,0 mg, 0,3 mmol) en isopropanol (3 mL) se agitó a reflujo durante una noche. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló, se lavó con isopropanol y éter. Después se secó el sólido para dar el compuesto del título 0408-36 como un sólido amarillo (88 mg, 72%): LCMS: 491 [M+1]<sup>+</sup>. Etapa 21b. 7-(4-(3-Etinilfenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (compuesto 36)

- 20 La disolución de hidroxiamina recién preparada (3 mL, 2 mmol) se puso en un matraz de 25 mL. Se añadió el compuesto 0408-36 (88,0 mg, 0,18 mmol) a esta disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla se neutralizó con ácido acético/metanol y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 36 como un sólido blanco (40 mg, 47%): LCMS: 479 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,33 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,79 (s, 1H), 1,94 (t, 2H), 3,72 (s, 2H), 4,11 (s, 2H), 4,25 (s, 2H), 7,19 (s, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,79 (s, 1H), 8,10 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 9,52 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

- 25 Ejemplo de Referencia 22: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxi glutaramida (Compuesto 38)

Etapa 22a. 7-Cloroquinazolin-4(3H)-ona (Compuesto 0302)

- 30 Una mezcla del compuesto 0301 (17,2 g, 100 mmol) y formamida (20 mL) se agitó a 130 °C durante 30 minutos y a 190 °C durante 4 horas. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente. Después se vertió en una mezcla de hielo y agua. El precipitado se aisló, se lavó con agua y se secó para dar el compuesto del título 0302 (15,8 g, 87,7%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,65 (dd, 1H), 7,72 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,36 (s, 1H).

Etapa 22b. 7-Cloro-6-nitroquinazolin-4(3H)-ona (compuesto 0303)

- 35 Se añadió en porciones el compuesto 0302 (18,0 g, 100 mmol) a una mezcla agitada de ácido sulfúrico concentrado (60 mL) y ácido nítrico fumante (60 mL) que había sido enfriada a 0 °C, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y después se calentó a 45 °C durante una noche. Se vertió la mezcla en la mezcla de hielo y agua. El precipitado se aisló, se lavó con agua y se secó. Recristalización desde ácido acético para dar el compuesto del título 0303 (14,1 g, 62,7%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,00 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 12,70 (s, 1H).

Etapa 22c. 7-Metoxi-6-nitroquinazolin-4(3H)-ona (compuesto 0304)

- 40 Una mezcla del compuesto 0303 (4,0 g, 18,0 mmol) y sodio (2,4 g, 45 mmol) en metanol (50 mL) se calentó a 100 °C en un recipiente de presión sellado durante 20 horas. Se neutralizó la disolución con ácido acético y se diluyó con agua para dar el compuesto del título 0304 (3,0 g, 77%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,10 (s, 3H), 7,40 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 12,67 (s, 1H).

Etapa 22d. 4-Cloro-7-metoxi-6-nitroquinazolina (compuesto 0305)

- 45 Se suspendió el compuesto 0304 (3,8 g, 17,2 mmol) en POCl<sub>3</sub> (75 mL), se calentó la mezcla a reflujo durante 4 horas. El POCl<sub>3</sub> adicional se retiró a vacío. El residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano (50 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso (50 mL). La capa orgánica se secó y el disolvente se retiró para dar el compuesto del título 0305 (3,4 g, 83%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,05 (s, 3H), 7,44 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,53 (s, 1H).

Etapa 22e. Hidrocloruro de N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-nitroquinazolin-4-amina (compuesto 0307)

- 50 Una mezcla del compuesto 0305 (3,4 g, 14,2 mmol) y 3-cloro-4-fluoroanilina (0406) (2,2 g, 15,2 mmol) e isopropanol (120 mL) se agitó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y el precipitado se aisló, se lavó con metanol y éter y después se secó para dar el compuesto del título 0307 (4,66 g, 85%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,10 (s, 3H), 7,55 (dd, 2H), 7,74 (m, 1H), 8,07 (dd, 1H), 8,90 (s, 1H), 9,55 (s, 1H), 11,6 (s, 1H).



Etapa 22f. N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-nitroquinazolin-4-amina (Compuesto 0308)

Una mezcla del compuesto 0307 (3,5 g, 10,0 mmol) y polvo de hierro (11,2 g, 200,0 mmol) y etanol (100 mL) y ácido clorhídrico concentrado (2 mL), y agua (30 mL) se calentó a reflujo durante 1 hora. Se retiró el polvo de hierro por filtración. El filtrado se concentró a 1/5 de volumen. El precipitado se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0308 (2,2 g, 69%). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,97 (s, 3H), 5,38 (s, 2H), 7,10 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,39 (t, 1H), 7,80 (m, 1H), 8,08 (dd, 1H), 8,38 (s, 1H), 9,39 (s, 1H).

Etapa 22g. 3-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilcarbamoyl)propanoato de metilo (Compuesto 0310-38)

El compuesto 0308 (500,0 mg, 1,57 mmol) y trietilamina (165,0 mg, 1,65 mmol) se disolvió en diclorometano (50 mL). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió la disolución de 5-cloro-5-oxopentanoato de metilo (270 mg, 1,65 mmol) en diclorometano (5 mL) a la mezcla anterior gota a gota a 0 °C en 20 minutos. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se lavó con agua (50 mL×2) y salmuera (50 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título 0310-38 (550 mg, 78%), LCMS: 448 [M+1]<sup>+</sup>.

15 Etapa 22h. N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxiglutaramida (Compuesto 38)

A una disolución agitada de hidrocloreto de hidroxilamina (4,67 g, 67 mmol) en metanol (24 mL) a 0 °C se añadió una disolución de hidróxido de potasio (5,61 g, 100 mmol) en metanol (14 mL). Después de la adición, se agitó la mezcla durante 30 minutos a 0 °C y se dejó reposar a baja temperatura. El precipitado resultante se aisló, y la disolución se preparó para dar hidroxilamina libre.

20 La disolución de hidroxilamina recién preparada anterior (5,6 mL, 10,0 mmol) se puso en un matraz de 10 mL. Se añadió el compuesto 0310-38 (550,0 mg, 1,23 mmol) a esta disolución y se agitó a 0 °C durante 10 minutos y se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. El proceso de la reacción fue controlado por TLC. La mezcla se neutralizó con ácido acético. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 38 como un sólido gris (250 mg, 45%): LCMS: 448 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,85 (m, 2H), 2,06 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,48 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,00 (s, 3H), 7,24 (s, 1H), 7,42 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,80 (m, 1H), 8,10 (dd, J = 7,2 Hz, 2,7 Hz, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 9,79 (s, 1H), 10,40 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 23: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxiocetodiamida (Compuesto 40)

30 Etapa 23a. 8-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilamino)-8-oxooctanoato de metilo (Compuesto 0310-40)

El compuesto del título 0310-40 se preparó como un sólido amarillo (350 mg, 78%) a partir del compuesto 0308 (319 mg, 1,0 mmol) y 8-cloro-8-oxooctanoato de metilo (227 mg, 1,1 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0310-38 (Ejemplo 22): LCMS: 489 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 23b. N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxiocetodiamida (Compuesto 40)

35 El compuesto del título 40 se preparó como un sólido amarillo (120 mg, 30%) a partir del compuesto 0310-38 (400 mg, 0,8 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 38 (Ejemplo 22): LCMS: 490 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,29 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,93 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,45 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,00 (s, 3H), 4,18 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,41 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,74 (m, 1H), 8,08 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,95 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

40 Ejemplo de Referencia 24: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxiglutaramida (Compuesto 42)

Etapa 24a. Hidrocloreto de N-(3-etinilfenil)-7-metoxi-6-nitroquinazolin-4-amina (Compuesto 0307-42)

45 El compuesto del título 0307-42 se preparó como un sólido amarillo (4,7 mg, 84,5%) a partir del compuesto 0305 (350 mg, 0,78 mmol) y 3-etinilbencenamina (2,34 mg, 20,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0306-38 (Ejemplo 22): LCMS: 321 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,11 (s, 3H), 4,24 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,93 (m, 1H), 8,93 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 11,56 (s ancho, 1H).

Etapa 24b. N<sup>4</sup>-(3-etinilfenil)-7-metoxiquinazolina-4,6-diamina (Compuesto 0309-42)

50 El compuesto del título 0309-42 se preparó como un sólido amarillo (2,0 mg, 69%) a partir del compuesto 0307-42 (3,2 mg, 10,0 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0308-38 (Ejemplo 22): LCMS: 291 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,95 (s, 3H), 4,14 (s, 1H), 5,33 (s, 2H), 7,08 (m, 2H), 7,34 (m, 2H), 7,88 (m, 1H), 8,04 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 9,29 (s, 1H).

Etapa 24c. 5-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilamino)-5-oxopentanoato de metilo (Compuesto 0311-42)

El compuesto del título 0311-42 se preparó como un sólido amarillo (450 mg, 77%) a partir del compuesto 0309-42 (407 mg, 1,4 mmol) y 5-cloro-5-oxopentanoato de metilo (254 mg, 1,54 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0310-38 (Ejemplo 22): LCMS: 419 [M+1]<sup>+</sup>.

5 Etapa 24d. N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxiglutaramida (Compuesto 42)

El compuesto del título 42 se preparó como un sólido amarillo (100 mg, 47%) a partir del compuesto 0311-42 (211 mg, 0,5 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 38 (Ejemplo 22):

Ejemplo de Referencia 25: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>6</sup>-hidroxidipamida (Compuesto 43)

10 Etapa 25a. 6-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilamino)-6-oxohexanoato de metilo (Compuesto 0311-43)

El compuesto del título 0311-43 se preparó como un sólido amarillo (530 mg, 71%) a partir del compuesto 0309-42 (500 mg, 1,72 mmol) y 6-cloro-6-oxohexanoato de metilo (323 mg, 1,81 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0311-42 (Ejemplo 24): LCMS: 433 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 25b. N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>6</sup>-hidroxidipamida (Compuesto 43)

15 El compuesto del título 43 se preparó como un sólido amarillo (105 mg, 24%) a partir del compuesto 0311-43 (432 mg, 1,0 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 42 (Ejemplo 24): P.f.: 191,2~196,7 °C; LCMS: 434 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,58 (m, 4H), 1,98 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,44 (m, 2H), 3,99 (s, 3H), 4,16 (s, 1H), 7,18 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,37 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,84 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 9,42 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 10,35 (s, 1H).

20 Ejemplo de Referencia 26: N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxioctanodiamida (Compuesto 44)

Etapa 26a. 8-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilamino)-8-oxooctanoato de metilo (Compuesto 0311-44)

25 El compuesto del título 0311-44 se preparó como un sólido amarillo (150 mg, 78%) a partir del compuesto 0309-42 (120 mg, 0,4 mmol) y 8-cloro-8-oxooctanoato de metilo (91 mg, 0,44 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0311-42 (Ejemplo 24): LCMS: 461 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 26b. N<sup>1</sup>-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxioctanodiamida (Compuesto 44)

30 El compuesto del título 44 se preparó como un sólido amarillo (30 mg, 20%) a partir del compuesto 0311-44 (150 mg, 0,3 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 42 (Ejemplo 24): LCMS: 462 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,30 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,95 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,45 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,00 (s, 3H), 4,18 (s, 1H), 7,19 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,38 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 9,44 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 27: Preparación de (E)-3-(4-(2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)fenil)-N-hidroxiacrilamida (Compuesto 66)

Etapa 27a. (E)-3-(4-hidroxifenil)acrilato de metilo (Compuesto 0501-66)

35 Una mezcla de ácido 4-hidroxicinámico (8,2 g, 50 mmol) y una gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en metanol (30 mL) se calentó a reflujo durante una noche. Después se evaporó el disolvente, se disolvió el residuo en acetato de etilo, se lavó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> dos veces, salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentró para dar el compuesto del título 0501-66 como un sólido blanco (8,7 g, 98%): LCMS: 179 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 27b. (E)-3-(4-(2-(tosiloxi)etoxi)fenil)acrilato de metilo (Compuesto 0502-66)

40 Una mezcla del compuesto 0501-66 (5,0 g, 28,0 mmol) y 2-bromoetanol (3,9 g, 62,0 mmol) y carbonato de potasio en N,N-dimetilformamida se agitó a 80°C durante 24 horas. El proceso de la reacción fue controlado por TLC. Se filtró la mezcla. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter dietílico y se secó para dar (E)-3-(4-(2-hidroxietoxi)fenil)-acrilato de metilo como un sólido amarillo (1,6 g, 26,0%): LCMS: 223 [M+1]<sup>+</sup>.

45 A una mezcla de trietilamina (0,3 g, 3 mol) y diclorometano (20 mL) se añadió cloruro de tosilo (285 mg, 1,5 mmol) en porciones y se agitó durante 0,5 horas. Se añadió el compuesto (E)-3-(4-(2-hidroxietoxi)fenil)acrilato de metilo (333 mg, 1,5 mmol) a la mezcla anterior y se calentó a reflujo durante 24 horas. A la mezcla de reacción se añadió disolución saturada de cloruro de amonio y la capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se evaporó para dar el compuesto 0502-66 como un sólido blanco (200 mg, 36%): LCMS: 377 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 27e. (E)-3-(4-(2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)fenil)acrilato de metilo (Compuesto 0503-66)

5 Una mezcla del compuesto 0109 (176 mg, 0,55 mmol) y 0502-66 (152 mg, 0,94 mmol) y carbonato de potasio en N, N-dimetilformamida se agitó a 80°C durante 24 horas. El proceso de la reacción fue controlado por TLC. Se filtró la mezcla. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter dietílico y se secó para dar el compuesto del título 0503-66 como un sólido amarillo (281 mg, 98%): LCMS: 524 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 27d. (E)-3-(4-(2-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)fenil)-N-hidroxiacrilamida (Compuesto 66)

10 El compuesto del título 66 se preparó como un sólido blanco (65 mg, 19%) a partir del compuesto 0503-66 (346,0 mg, 0,66 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): LCMS: 525 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,93 (s, 3H), 4,48 (s, 4H), 6,31 (d, J = 16,2 Hz, 1H), 7,05 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,21 (s, 1H), 7,44 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,78 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 7,88 (m, 1H), 8,12 (dd, J = 6,6 Hz, 2,7 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 10,65 (s, 1H).

15 Ejemplo de Referencia 28: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxiglutaramida (Compuesto 68)

Etapa 28a. 7-(2-Metoxietoxi)-6-nitroquinazolin-4(3H)-ona (compuesto 0304-68)

20 Se añadió sodio (2,07 g, 90 mmol) a 2-metoxietanol (125 mL) a 0 °C hasta que se disolvió el sodio. Se añadió el compuesto 0303 (6,77 g, 30,0 mmol) a la disolución. Se agitó la mezcla a 90 °C durante 24 horas y después se ajustó a pH 7 mediante ácido acético. Se añadió agua (50 mL) a la mezcla y el precipitado amarillo resultante se aisló, se lavó con agua y se secó para proporcionar el compuesto del título 0304-68 como un sólido amarillo (7,003 g, 88%): LCMS: 266 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 28b. 4-Cloro-7-(2-metoxietoxi)-6-nitroquinazolina (compuesto 0305-68)

25 Una mezcla del producto 0304-68 (5,30 g, 20,0 mmol) y tricloruro de fosforilo (50 mL) se agitó a reflujo durante 5 horas. Cuando se obtuvo una disolución transparente, el tricloruro de fosforilo en exceso se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 mL) y la capa orgánica se lavó a su vez con agua (30 mL×2), disolución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL×2) y salmuera (20 mL×1), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0305-68 como un sólido amarillo (5,31 mg, 94%): LCMS: 284 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 28c. N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(2-metoxietoxi)-6-nitroquinazolin-4-amina (compuesto 0306-68)

30 Una mezcla del producto 0305-68 (5,31 mg, 18,7 mmol) y 3-cloro-4-fluorobencenamina (5,45 mg, 37,4 mmol) en isopropanol (150 mL) se agitó a reflujo durante una noche. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló, se lavó con metanol y éter. Después el sólido se secó para dar el compuesto del título 0306-68 como un sólido amarillo (5,70 g, 77%): LCMS: 393 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 28d. N<sup>4</sup>-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(2-metoxietoxi)quinazolina-4,6-diamina (compuesto 0308-68)

35 Una mezcla de 0306-68 (5,70 g 14,5 mmol), etanol (165 mL), agua (43,5 mL) y cloruro de hidrógeno (2,9 mL) se agitó hasta formar una disolución transparente. Se añadió el polvo de hierro (16,24 mg, 290,0 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 2 horas. Se enfrió hasta la temperatura ambiente, se ajustó el pH a 11 con disolución de hidróxido de sodio al 10% en baño de hielo-agua y se filtró. El filtrado se concentró para retirar el etanol y se extrajo con acetato de etilo (100 mL×2), la capa orgánica se lavó con salmuera (30 mL×3) y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0308-68 como un sólido amarillo (4,92 g, 93%): LCMS: 363 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 28e. 5-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-ilamino)-5-oxopentanoato de metilo (Compuesto 0310-68)

45 Se añadió el 5-cloro-5-oxopentanoato de metilo (0,198 g, 1,2 mmol) a una disolución del compuesto 0308-68 (0,22 g, 0,6 mmol) en 30 mL de diclorometano y trietilamina (0,48 g, 4,8 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a 0°C. Después la mezcla de reacción se lavó con agua y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0310-68 como un aceite marrón (270 mg, 92%): LCMS: 491 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 28f. N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>5</sup>-hidroxiglutaramida (Compuesto 68)

50 A una disolución agitada de hidrocloreto de hidroxilamina (4,67 g, 67 mmol) en metanol (24 mL) a 0 °C se añadió una disolución de hidróxido de potasio (5,61 g, 100 mmol) en metanol (14 mL). Después de la adición, se agitó la mezcla durante 30 minutos a 0 °C y se dejó reposar a baja temperatura. El precipitado resultante se aisló, y la disolución se preparó para dar hidroxilamina libre.

- La disolución de hidroxilamina recién preparada anterior (6 mL, 4,0 mmol) se puso en un matraz de 25 mL. Se añadió el compuesto 0310-68 (270 mg, 0,55 mmol) a esta disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se neutralizó la mezcla con ácido acético/metanol. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 68 como un sólido amarillo (220 mg, 75%): LCMS: 492 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,83 (m, J = 7,5 Hz, 2H), 2,05 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,31 (s, 3H), 3,76 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,2 Hz, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,40 (t, J = 9 Hz, 1H), 7,77 (m, 1H), 8,10 (m, J = 2,1 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,752 (s, 1H), 9,33 (s, 1H), 9,77 (s, 1H), 10,38 (s, 1H).
- 5 Ejemplo de Referencia 29: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>6</sup>-hidroxidipamida (Compuesto 69)
- 10 Etapa 29a. 6-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-ilamino)-6-oxohexanoato de metilo (Compuesto 0310-69)
- Se añadió el 6-cloro-6-oxohexanoato de metilo (0,36 g, 1,76 mmol) a una disolución del compuesto 0308-68 (0,15 g, 0,4 mmol) en 25 mL de diclorometano y trietilamina (0,162 g, 1,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se lavó con agua y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0310-69 como un aceite marrón (185 mg, 92%): LCMS: 505 [M+1]<sup>+</sup>.
- 15 Etapa 29b. N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>6</sup>-hidroxidipamida (compuesto 69)
- La disolución de hidroxilamina recién preparada anterior (6 mL, 4 mmol) se puso en un matraz de 25 mL. Se añadió el compuesto 0310-69 (185 mg, 0,38 mmol) a esta disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se neutralizó la mezcla con ácido acético/metanol. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 69 como un sólido blanco (150 mg, 74%): LCMS: 506 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,58 (m, 4H), 1,98 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,46 (t, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,78 (t, J = 4,2 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,39 (t, J = 9 Hz, 1H), 7,79 (m, 1H), 8,11 (m, J = 2,7 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 9,25 (s, 1H), 9,76 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).
- 20 Ejemplo de Referencia 30: Preparación de N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxioctanodiamida (Compuesto 70)
- 25 Etapa 30a. 8-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-ilamino)-8-oxooctanoato de metilo (Compuesto 0310-70)
- Se añadió el 8-cloro-8-oxooctanoato de metilo (0,496 g, 2,4 mmol) a una disolución del compuesto 0308-68 (0,219 g, 0,6 mmol), 30 mL de diclorometano y trietilamina (0,48 g, 2,4 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a 0°C. La mezcla de reacción se lavó con agua y se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar el producto del título 0310-70 como un aceite marrón (281 mg, 88%): LCMS: 533 [M+1]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,35 (m, 4H), 1,58 (m, 2H), 1,61 (m, 2H), 2,29 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,41 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,77 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,40 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 7,78 (m, 1H), 8,11 (m, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 9,76 (s, 1H).
- 30 Etapa 30b. N<sup>1</sup>-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(2-metoxietoxi)quinazolin-6-il)-N<sup>8</sup>-hidroxioctanodiamida (compuesto 70)
- 35 La disolución de hidroxilamina recién preparada (6 mL, 4,0 mmol) se puso en un matraz de 25 mL. Se añadió el compuesto 0310-70 (281 mg, 0,53 mmol) a esta disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se neutralizó la mezcla con ácido acético/metanol. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 70 como un sólido amarillo (126 mg, 40%): LCMS: 506 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,35 (m, 4H), 1,58 (m, J = 6,9 Hz, 2H), 1,61 (m, J = 7,2 Hz, 2H), 1,93 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,42 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,77 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,40 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 7,78 (m, 1H), 8,11 (m, J = 2,4 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,62 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 8,75 (s, 1H), 9,25 (s, 1H), 9,76 (s, 1H), 10,31 (s, 1H).
- 40 Ejemplo de Referencia 31: Preparación de 7-(4-(3-etinil-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 75)
- 45 Etapa 31a. 2-Bromo-1-fluoro-4-nitrobenzoceno (compuesto 0602)
- A una disolución de 1-bromo-2-fluorobenceno (35,0 g, 200 mmol) en 200 mL de ácido sulfúrico concentrado se añadieron 20 mL de ácido nítrico al 68%. La temperatura de la mezcla se mantuvo por debajo de 20 °C. Después de que se completó la adición, se agitó la mezcla a 10 °C durante una noche, después se diluyó con hielo y agua. El sólido resultante se recogió por filtración. El sólido se recristalizó desde éter de petróleo para dar el compuesto del título 0602 como un sólido amarillo (38 g, 89%): p.f. 55,8-56,7 °C, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,66 (t, J = 9 Hz, 1H), 8,32 (m, 1H), 8,58 (dd, J = 3 Hz, 6 Hz, 1H).
- 50

## Etapa 31b. ((2-Fluoro-5-nitrofenil)etnil)trimetilsilano (Compuesto 0603)

Una mezcla del compuesto 0602 (11,0 g, 50 mmol), etniltrimetilsilano (7,5 g, 75 mmol), trifenilfosfina (0,5 g) y acetato de paladio (II) (0,25 g) en 125 mL de trietilamina exenta de aire se calentó a 100 °C durante una noche en argón. La reacción se enfrió y se filtró, y el filtrado se concentró hasta un aceite marrón oscuro que se destiló a presión reducida para dar el compuesto del título 0603 como un sólido marrón claro (4,7 g, 40%). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0,3 (s, 9H, SiCH<sub>3</sub>), 7,22 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 8,2-8,5 (m, 2H).

## Etapa 31c. 4-Fluoro-3-((trimetilsilil)etnil)bencenamina (Compuesto 0604)

En 25 mL de metanol se mezcló el compuesto 0603 (3,5 g, 14,8 mmol) y limaduras de hierro (4,14 g, 74,0 mmol). A esta mezcla se añadió ácido clorhídrico concentrado y agua para ajustar el pH a 4-5. La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas, se enfrió, y se filtró a través de gel de sílice. El filtrado se concentró para dar un residuo sólido amarillo que se extrajo después con éter. La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el compuesto del título 0604 como un sólido marrón (2,69 g, 88%): LCMS 208 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 31d. 3-Etnil-4-fluorobencenamina (Compuesto 0605)

El compuesto 0604 obtenido anteriormente se trató con 100 mg de hidróxido de potasio en 20 mL de metanol a temperatura ambiente durante una noche. La disolución se concentró, se diluyó con agua, se llevó a neutralidad, y después se extrajo con éter. La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró para dar el compuesto del título 0605 como un aceite marrón (1,49 g, 85%): LCMS 136 [M+1]<sup>+</sup>. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

## Etapa 31e. Acetato de 4-(3-etnil-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo (Compuesto 0606)

Una mezcla de acetato de 4-cloro-7-metoxiquinazolin-6-ilo (compuesto 0105) (252 g, 1,0 mmol) y 3-etnil-4-fluorobencenamina (605) (200 g, 1,5 mmol) en isopropanol (10 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló. Después el sólido se secó para dar el compuesto del título 0606 (260 g, 74,0%) como un sólido amarillo claro: LCMS: 352 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 31f. 4-(3-Etnil-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0607)

Una mezcla del compuesto 0606 (260 mg, 0,74 mmol), LiOH H<sub>2</sub>O (250 mg, 5,8 mmol) en metanol (25 ml) y H<sub>2</sub>O (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La mezcla se neutralizó por adición de ácido acético diluido. El precipitado se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0607 (234 mg, 100%) como un sólido gris: LCMS: 310 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 31g. 7-(4-(3-Etnil-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)heptanoato de etilo (Compuesto 0608-75)

El compuesto del título 0608-75 se preparó como un sólido amarillo (300 mg, 87,0%) a partir del compuesto 607 (230 mg, 0,74 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (176 mg, 0,74 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0110-1 (Ejemplo 1): LCMS: 466 [M+1]<sup>+</sup>.

## Etapa 31h. 7-(4-(3-Etnil-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)N-hidroxiheptanamida (compuesto 75)

El compuesto del título 75 se preparó como un sólido blanco (176 mg, 70%) a partir del compuesto 0608 (250 mg, 0,54 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 1 (Ejemplo 1): p.f. 150,4-164,5 °C (desc); LCMS: 453 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,33 (m, 2H), 1,48 (m, 4H), 1,80 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,91 (s, 3H), 4,10 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 4,51 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,31 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,85 (m, 1H), 7,98 (m, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 9,47 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 32: Preparación de (R)-N-hidroxi-6-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ilo)hexanamida (Compuesto 77)

## Etapa 32a. (R)-7-Metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0701-77)

Una mezcla del compuesto 0105 (2,0 g, 8,0 mmol), (R)-1-feniletanamina (2,91 g, 24,0 mmol) e isopropanol (50 mL) se agitó a 60 °C durante una noche. Se retiró el isopropanol y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto del título 0701-77 (1,32 g, 56%). LCMS: 296 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 32b. (R)-6-(7-Metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ilo)hexanoato de etilo (Compuesto 0702-77)

Una mezcla del compuesto 0701-77 (500,0 mg, 1,69 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (700,0 mg, 5,07 mmol), 6-bromohexanoato de etilo (378,0 mg, 1,69 mmol) y DMF (20 mL) se calentó a 60 °C durante 3 h. El DMF se retiró a presión reducida, el residuo se suspendió en agua, y el sólido resultante se recogió y se secó para dar el compuesto del título 0702-77 (320 mg, 43%). LCMS: 438 [M+1]<sup>+</sup>. Etapa 32c. (R)-N-Hidroxi-6-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ilo)hexanamida (compuesto 77)

Una mezcla del compuesto 0702-77 (320,0 mg, 0,73 mmol) y 1,77 mol/L de  $\text{NH}_2\text{OH}/\text{MeO}$  (4,0 mL, 6,77 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se neutralizó con  $\text{AcOH}$  y se concentró. El residuo se suspendió en agua y el sólido resultante se aisló y se secó para dar el producto bruto. Este producto bruto se purificó por pre-HPLC para dar el compuesto del título 77 (36 mg, 12%). LCMS: 425  $[\text{M}+1]^+$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,46 (m, 2H), 1,59 (m, 5H), 1,82 (m, 2H), 2,01 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,10 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 5,63 (m, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,42 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,75 (s, 1H), 8,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 10,36 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 33: Preparación de (R)-N-hidroxi-6-(4-(1-feniletilamino)-quinaxolin-6-iloxi)hexanamida (Compuesto 78)

10 Etapa 33a. (R)-4-(1-Feniletilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0701-78)

Una mezcla del compuesto 0204 (1,0 g, 4,5 mmol) y (R)-1-(3-cloro-4-fluoro-fenil)etanamina (0,87 g, 5,0 mmol) en isopropanol (45 mL) se agitó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló. El sólido se lavó a su vez con isopropanol y metanol, se secó para proporcionar el compuesto del título, acetato de (R)-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ilo, como un sólido amarillo (0,62 g, 61%): LCMS 308  $[\text{M}+1]^+$ .

Una mezcla del producto anterior (0,7 g, 2,3 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (0,29 g, 6,81 mmol) en metanol (10 ml)/agua (15 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se ajustó el pH a 4 con ácido acético y se filtró. El sólido amarillo recogido se lavó con agua y se secó para obtener el compuesto del título 0701-78 como un sólido amarillo (0,42 g, 62%), LCMS 266  $[\text{M}+1]^+$ .

20 Etapa 33b. (R)-6-(4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)hexanoato de etilo (Compuesto 0702-78)

Una mezcla del compuesto 0701-78 (0,31 g, 1,2 mmol), 6-bromohexanoato de etilo (0,27 g, 1,2 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,8 g, 5,8 mmol) en DMF (15 mL) se agitó y se calentó a 80 °C durante 2 horas. Se filtró la mezcla y el filtrado se evaporó. El sólido resultante se lavó con éter para obtener el compuesto del título 0702-78 como un sólido amarillo pálido (0,2 g, 42,5%), LCMS 408  $[\text{M}+1]^+$ .

25 Etapa 33c. (R)-N-Hidroxi-6-(4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)hexanamida (Compuesto 78)

El compuesto del título 78 se preparó como un sólido amarillo pálido (42 mg, 26%) a partir del compuesto 0702-78 (168 mg, 0,41 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): LCMS 395  $[\text{M}+1]^+$ ,  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,47 (m, 2H), 1,52 (m, 2H), 1,65 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,71 (m, 2H), 2,05 (t, J = 3,9 Hz, 2H), 4,04 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 5,56 (q, J = 6,3 Hz, 1H), 7,13 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,26 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 7,32 (dd, J = 2,7, J = 9,0 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,65 (m, 1H), 8,26 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 34: Preparación de (R)-N-hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 79)

Etapa 34a. (R)-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-79)

35 Una mezcla del compuesto 0701-79 (500 mg, 1,69 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (700 mg, 5,07 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (401 mg, 1,69 mmol) y DMF (20 mL) se calentó a 60 °C durante 3 h. La DMF se retiró a presión reducida y el residuo se suspendió en agua. El sólido resultante se recogió y se secó para dar el compuesto del título 0702-79 (340 mg, 44%). LCMS: 452  $[\text{M}+1]^+$ .

Etapa 34b. (R)-N-Hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 79)

40 El compuesto del título 79 se preparó (41 mg, 12%) a partir del compuesto 0702-79 (340 mg, 0,75 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): LCMS: 439  $[\text{M}+1]^+$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,34 (m, 2H), 1,52 (m, 4H), 1,58 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,99 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 4,10 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 5,62 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,31 (m, 2H), 7,41 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,74 (s, 1H), 8,05 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 10,32 (s, 1H).

45 Ejemplo de Referencia 35: Preparación de (S)-N-hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 80)

Etapa 35a. (S)-7-Metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0701-80)

El compuesto del título 0701-80 se preparó como un sólido amarillo (556 mg, 62,8%) a partir del compuesto 0105 (750 mg, 3,0 mmol) y (S)-1-feniletanamina (1089 mg, 9,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 296  $[\text{M}+1]^+$ .

50

Etapa 35b. (S)-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-80)

El compuesto del título 0702-80 se preparó como un sólido amarillo (160 mg, 70,95%) a partir del compuesto 701-80 (148 mg, 0,5 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (120 mg, 0,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 452 [M+1]<sup>+</sup>.

5 Etapa 35c. (S)-N-hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-feniletilamino)quinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 80)

El compuesto del título 80 se preparó como un sólido blanco (95 mg, 61,9%) a partir del compuesto 0702-80 (160 mg, 0,35 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (3 mL, 5,31 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): p.f. 106,7~111,3°C, LCMS: 439 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,42 (m, 6H), 1,57 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 1,79 (m, 2H), 1,95 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,08 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 5,62 (m, J = 6,6 Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,21 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,30 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,75 (s, 1H), 8,15 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 10,30 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 36: Preparación de (R)-7-(4-(1-(4-fluorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 81)

Etapa 36a. (R)-4-(1-(4-Fluorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-81)

15 El compuesto del título 0701-81 se preparó como un sólido amarillo (495 mg, 52,71%) a partir del compuesto 0105 (750 mg, 3,0 mmol) y (R)-1-(4-fluorofenil)etanamina (1.251 mg, 9,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 314 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 36b. (R)-7-(4-(1-(4-fluorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-81)

20 El compuesto del título 0702-81 se preparó como un sólido amarillo (190 mg, 81,0%) a partir del compuesto 0701-81 (156 mg, 0,5 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (120 mg, 0,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 470 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 36c. (R)-7-(4-(1-(4-Fluorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 81)

25 El compuesto del título 81 se preparó como un sólido blanco (100 mg, 54,12%) a partir del compuesto 0702-81 (190 mg, 0,40 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (3 mL, 5,31 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): p.f. 118,2-144,3°C, LCMS: 457 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,33 (m, 2H), 1,47 (m, 4H), 1,56 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,78 (m, 2H), 1,95 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,87 (s, 1H), 4,07 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 5,60 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,11 (t, J = 9,0 Hz, 2H), 7,44 (m, 2H), 7,71 (s, 1H), 8,04 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

30 Ejemplo de Referencia 37: Preparación de (R)-7-(4-(1-(4-clorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 82)

Etapa 37a. (R)-4-(1-(4-Clorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-82)

El compuesto del título 0701-82 se preparó como un sólido amarillo (0,65 mg, 49%) a partir del compuesto 0105 (1,0 mg, 4 mmol) y (R)-1-(4-clorofenil)etanamina (1,87 mg, 12 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 300 [M+1]<sup>+</sup>.

35 Etapa 37b. (R)-7-(4-(1-(4-clorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-82)

El compuesto del título 0702-82 se preparó como un sólido amarillo (460 mg, 56%) a partir del compuesto 0701-82 (550 mg, 1,7 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (404 mg, 1,7 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 486 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 37c. (R)-7-(4-(1-(4-Clorofenil)etilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 82)

40 El compuesto del título 82 se preparó como un sólido blanco (145 mg, 29%) a partir del compuesto 0702-81 (510 mg, 1,05 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH 0,77 mol/L fresca (4,7 mL, 8,4 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): LCMS: 473 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,34 (m, 2H), 1,47 (m, 4H), 1,57 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 1,80 (m, 2H), 1,97 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 4,10 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 5,57 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,38 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,73 (s, 1H), 8,04 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 10,33 (s, 1H).

45 Ejemplo de Referencia 38: Preparación de (R)-N-hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-(4-metoxifenil)etilamino)quinazolin-6-iloxi)-heptanamida (Compuesto 83)

Etapa 38a. (R)-7-Metoxi-4-(1-(4-metoxifenil)etilamino)quinazolin-6-ol (Compuesto 0701-83)

Una mezcla del compuesto 0105 (1,0 g, 4,0 mmol), (R)-1-(4-metoxifenil)etanamina (1,81 g, 12,0 mmol) e isopropanol (25 mL) se agitó a 60 °C durante una noche. Se retiró el isopropanol y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto del título 0701-83 (0,81 g, 62%). LCMS: 326 [M+1]<sup>+</sup>.

5 Etapa 38b. (R)-7-(7-metoxi-4-(1-(4-metoxifenil)etilamino)quinazolin-6-ilo)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-83)

Una mezcla del compuesto 0701-83 (630 mg, 1,94 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (804 mg, 5,8 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (459 mg, 1,94 mmol) y DMF (20 mL) se calentó a 60 °C durante 3 h. La DMF se retiró a presión reducida, el residuo se suspendió en agua, y el sólido se recogió y se secó para dar el compuesto del título 0703-83 (440 mg, 47%). LCMS: 482 [M+1]<sup>+</sup>.

10 Etapa 38c. (R)-N-Hidroxi-7-(7-metoxi-4-(1-(4-metoxifenil)etilamino)-quinazolin-6-ilo)-heptanamida (Compuesto 83)

Una mezcla del compuesto 0702-83 (530 mg, 1,1 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/MeOH 1,77 mol/L (5 mL, 8,8 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se neutralizó con AcOH y después la mezcla se concentró y el residuo se suspendió en agua, el precipitado se aisló y se secó para dar el producto bruto. Este producto se purificó por pre-HPLC para dar el compuesto del título 83 (151 mg, 29%). LCMS: 469 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,32 (m, 2H), 1,45 (m, 4H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 1,78 (m, 2H), 1,95 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 4,07 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 5,56 (m, 1H), 6,87 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,05 (s, 1H), 7,31 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,96 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 10,31 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 39: Preparación de 7-(4-(Bencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 85)

20 Etapa 39a. 4-(Bencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (0701-85)

Se añadió bencilamina (1,28 g, 12,0 mmol) a una mezcla del compuesto 0105 (1,0 g, 4,0 mmol) y 2-propanol (50 ml). Después la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y el precipitado resultante se aisló. Después se secó el sólido para dar el compuesto del título 0701-85 como un sólido amarillo (854 mg, 76%); LCMS: 282 [M+1]<sup>+</sup>.

25 Etapa 39b. 7-(4-(bencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-85)

El compuesto del título 0702-85 se preparó como un sólido amarillo (270 mg, 62%) a partir del compuesto 0701-85 (281 mg, 1,0 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (236 mg, 1 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32); LCMS: 438 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 39c. 7-(4-(Bencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxiheptanamida (compuesto 85)

30 El compuesto del título 85 se preparó como un sólido amarillo (64 mg, 24%) a partir del compuesto 0702-85 (270 mg, 0,62 mol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32); LCMS: 425 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,32 (m, 2H), 1,42 (m, 2H), 1,51 (m, 2H), 1,76 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,03 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,76 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 7,08 (s, 1H), 7,21 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 7,30 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,42 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 8,64 (s, 1H), 10,32 (s, 1H).

35 Ejemplo de Referencia 40: Preparación de 7-(4-(4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 86)

Etapa 40a. 4-(4-Fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-86)

40 El compuesto del título 0701-86 se preparó como un sólido amarillo (489 mg, 54,5%) a partir del compuesto 0105 (750 mg, 3,0 mmol) y (4-fluorofenil)metanamina (1.125 mg, 9,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32); LCMS: 300 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 40b. 7-(4-(4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-86)

El compuesto del título 0702-86 se preparó como un líquido amarillo (408 mg, 89,67%) a partir del compuesto 0701-86 (300 mg, 1,0 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (237 mg, 1,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32); LCMS: 456 [M+1]<sup>+</sup>.

45 Etapa 40c. 7-(4-(4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ilo)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 86)

50 El compuesto del título 86 se preparó como un sólido blanco (300 mg, 69,97%) a partir del compuesto 0702-86 (442 mg, 0,97 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (4 mL, 7,08 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32); LCMS: 443 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,31~1,54 (m, 6H), 1,77 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,03 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,74 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 7,11 (m, 3H), 7,38 (m, 2H), 7,68 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,40 (m, 1H), 8,60 (s, 1H), 10,30 (s, 1H).



Ejemplo de Referencia 41: Preparación de 7-(4-(3,4-difluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 87)

Etapa 41a. 4-(3, 4-Difluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-87)

5 El compuesto del título 0701-87 se preparó como un sólido amarillo claro (500 mg, 52,6%) a partir del compuesto 105 (750 mg, 3,0 mmol) y (3,4-difluorofenil)metanamina (1.072 mg, 7,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 318 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 41b. 7-(4-(3,4-difluorobencilamino)-7-metoxi-4a, 5-dihidroquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-87)

10 El compuesto del título 0702-87 se preparó como un sólido amarillo claro (205 mg, 86,7%) a partir del compuesto 0701-87 (160 mg, 0,5 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (237 mg, 1,0 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 474 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 41c. 7-(4-(3,4-difluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 87)

15 El compuesto del título 87 se preparó como un sólido blanco (75 mg, 44,5%) a partir del compuesto 0702-87 (173 mg, 0,366 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (2 mL, 3,4 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): LCMS: 461 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,30 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,77 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,88 (s, 1H), 4,03 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,72 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 7,08 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,61 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,46 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 8,64 (s, 1H), 10,32 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 42: Preparación de 7-(4-(3-cloro-4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 88)

20 Etapa 42a. 4-(3-Cloro-4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-88)

El compuesto del título 0701-88 se preparó como un sólido amarillo claro (500 mg, 50,1%) a partir del compuesto 0105 (750 mg, 3,0 mmol) y (3-cloro-4-fluorofenil-4)metanamina (1.435 mg, 9 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 334 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 42b. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-88)

25 El compuesto del título 0702-88 se preparó como un sólido amarillo (306 mg, 92,02%) a partir del compuesto 0701-88 (227 mg, 0,68 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (161 mg, 0,68 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 490 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 42c. 7-(4-(3-Cloro-4-fluorobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-hidroxiheptanamida (Compuesto 88)

30 El compuesto del título 88 se preparó como un sólido blanco (210 mg, 70,02%) a partir del compuesto 0702-88 (306 mg, 0,63 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (3 mL, 5,31 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): p.f. 143,1°C (descomp.), LCMS: 477 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,31 (m, 2H), 1,48 (m, 4H), 1,77 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 4,04 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,74 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 7,09 (s, 1H), 7,35 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,58 (m, 1H), 8,65 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 11,92 (s, 1H).

35 Ejemplo de Referencia 43: Preparación de 7-(4-(3-bromobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 89)

Etapa 43a. 4-(3-Bromobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-ol (Compuesto 0701-89)

40 El compuesto del título 0701-89 se preparó como un sólido amarillo (543 mg, 50,2%) a partir del compuesto 0105 (750 mg, 3,0 mmol) y (3-bromofenil)metanamina (1.674 mg, 9 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0701-77 (Ejemplo 32): LCMS: 360 [M+1]<sup>+</sup>.

Etapa 43b. 7-(4-(3-Bromobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanoato de etilo (Compuesto 0702-89)

El compuesto del título 0702-89 se preparó como un sólido amarillo (230 mg, 89,15%) a partir del compuesto 0701-89 (180 mg, 0,5 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (120 mg, 0,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 0702-77 (Ejemplo 32): LCMS: 516 [M+1]<sup>+</sup>.

45 Etapa 43c. 7-(4-(3-bromobencilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-hidroxiheptanamida (Compuesto 89)

El compuesto del título 89 se preparó como un sólido blanco (105 mg, 53,96%) a partir del compuesto 0702-89 (200 mg, 0,39 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/CH<sub>3</sub>OH fresca (3 mL, 5,31 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 77 (Ejemplo 32): LCMS: 503 [M+1]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,31~1,56 (m, 6H), 1,75 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,06 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,75 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 7,08 (s, 1H), 7,27 (t, J = 7,5 Hz, 1H),

3,7,33 (m, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,41 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 8,60 (s, 1H), 10,29 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 44: Preparación de 4-(2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)-N-hidroxibenzamida (Compuesto 92)

5 Etapa 44a. 4-(2-bromoetoxi)benzoato de metilo (Compuesto 0502-92)

Una mezcla del compuesto éster metílico del ácido 4-hidroxibenzoico (457,0 mg, 3,0 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (828 mg, 6 mmol) y 1,2-dibromoetano (10 mL) se calentó a 130 °C durante 8 h. El 1,2-dibromoetano se retiró a presión reducida y el residuo se suspendió en agua. El precipitado resultante se aisló y se secó para dar el compuesto del título 0502-92 como un sólido blanco (440 mg, 57%). LCMS: 259 [M+1]<sup>+</sup>.

10 Etapa 44b. 4-(2-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)benzoato de metilo (Compuesto 0503-92)

Una mezcla del compuesto 109 (384 mg, 1,2 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (276 mg, 2 mmol), el compuesto 0502-92 (311 mg, 1,2 mmol) y DMF (10 mL) se calentó a 40 °C durante una noche. La DMF se retiró a presión reducida y el residuo se suspendió en agua. El precipitado se recogió y se secó para dar el compuesto del título 0503-92 como un sólido blanco (430 mg, 72%). LCMS: 259 [M+1]<sup>+</sup>.

15 Etapa 44c. 4-(2-(4-(3-Cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)etoxi)-N-hidroxibenzamida (Compuesto 92)

Una mezcla del compuesto 0502-92 (249 mg, 0,5 mmol) y NH<sub>2</sub>OH/MeOH 1,77 mol/L (5 mL, 8,85 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se neutralizó con AcOH y la mezcla se concentró y el residuo se suspendió en agua. El precipitado resultante se aisló y se secó para dar el producto bruto. Este producto bruto se purificó por pre-HPLC para dar el compuesto del título 92 como un sólido blanco (80 mg, 32%). LCMS: 439 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,07 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,50 (s, 4H), 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (s, 2H), 7,44 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,76 (m, 3H), 7,89 (s, 1H), 8,12 (m, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 9,54 (s, 1H), 11,05 (s, 1H).

20 Ejemplo de Referencia 45: Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-metoxiheptanamida (Compuesto 95)

25 Una mezcla del compuesto 0802 (544 mg, 1,25 mmol) y yodometano (0804) (177 mg, 1,25 mmol) y carbonato de potasio (1,0 g, 7,25 mmol) en N,N-dimetilformamida (15 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo (50 mL). La capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (20 mL) y salmuera (20 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró para dar el compuesto del título 95 como un sólido amarillo pálido (500 mg, 89%). p.f. 195,8~197,0 °C; LCMS: 449 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,35 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,80 (m, 2H), 1,94 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,54 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 4,12 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 4,19 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,40 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,87 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 9,45 (s, 1H), 10,92 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 46: Preparación de N-acetoxi-7-(4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 96)

35 Una mezcla del compuesto 0801 (50 mg, 0,108 mmol) y Ac<sub>2</sub>O (204 mg, 2,0 mmol) y AcOH (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se neutralizó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. El precipitado se aisló y se secó para dar el producto 96 (42 mg, 77%). LCMS: 505 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,40 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,12 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 4,13 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 7,20 (s, 1H), 7,43 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,84 (s, 1H), 8,12 (m, 1H), 8,49 (s, 1H), 9,67 (s, 1H).

40 Ejemplo de Referencia 47: Preparación de N-acetoxi-7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 97)

45 El compuesto del título 97 se preparó como un sólido (45 mg, 86,0%) a partir del compuesto 0802 (48 mg, 0,11 mmol) y Ac<sub>2</sub>O (204 mg, 2 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 96 (Ejemplo 46): LCMS: 476,5 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,40 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,13 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 4,14 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,19 (s, 1H), 7,20 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,89 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 11,55 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 48: Preparación de N-(ciclohexanocarbonilo)-7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 98)

50 El compuesto 0802 (218 mg, 0,5 mmol) y trietilamina (75 mg, 0,75 mmol) se disolvieron en acetona (20 mL) y N,N-dimetilformamida (2 mL). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió una disolución de cloruro de ciclohexanocarbonilo (73 mg, 0,5 mmol) en acetona (5 mL) a la disolución anterior gota a gota. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto del título 98 como un sólido amarillo (50 mg, 18%): LCMS: 545 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,21~1,63 (m, 15H), 1,81 (m, 4H), 2,11 (t, J = 7,2

Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,12 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,17 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,39 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,81 (s, 1H), 7,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 9,45 (s, 1H), 11,50 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 49: Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-(isobutiriloxi)heptanamida (Compuesto 99)

5 El compuesto del título 99 se preparó como un sólido amarillo (100 mg, 44,0%) a partir del compuesto 0802 (195 mg, 0,45 mmol) y cloruro de isobutirilo (48 mg, 0,45 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 98 (Ejemplo 48): LCMS: 505 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (d, J = 7,2 Hz, 6H), 1,39 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 2,11 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,68 (m, J = 7,2 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,12 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,17 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,38 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,88 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 11,55 (s, 1H).

10 Ejemplo de Referencia 50: Preparación de 7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)-N-(propioniloxi)heptanamida (Compuesto 100)

15 El compuesto del título 100 se preparó como un sólido amarillo (100 mg, 41,0%) a partir del compuesto 0802 (218 mg, 0,5 mmol) y cloruro de propionilo (47 mg, 0,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 98 (Ejemplo 48): LCMS: 491 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,39 (m, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 2,12 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,41 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,12 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,18 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,38 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,88 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 9,45 (s, 1H), 11,53 (s, 1H).

20 Ejemplo de Referencia 51: Preparación de N-(benzoiloxi)-7-(4-(3-etinilfenilamino)-7-metoxiquinazolin-6-iloxi)heptanamida (Compuesto 101)

25 El compuesto del título 101 se preparó como un sólido amarillo (150 mg, 56,0%) a partir del compuesto 0802 (218 mg, 0,5 mmol) y cloruro de benzoilo (72 mg, 0,5 mmol) usando un procedimiento similar al descrito para el compuesto 98 (Ejemplo 48): LCMS: 539 [M+1]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,51 (m, 4H), 1,61 (m, 2H), 1,84 (m, 2H), 2,21 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,14 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 4,19 (s, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,38 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,72 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,99 (m, 3H), 8,48 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 11,88 (s, 1H).

Ensayos biológicos:

30 Como se indicó anteriormente en la presente memoria, los derivados definidos en la presente invención poseen actividad anti-proliferación. Estas propiedades se pueden evaluar, por ejemplo, usando uno o más de los procedimientos expuestos a continuación:

(a) Un ensayo in vitro que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la cinasa de EGFR.

35 La capacidad de compuestos para inhibir la actividad de la cinasa de receptor (EGFR) fue ensayada usando Kits HTScan™ EGF Receptor Kinase Assay (Cell Signaling Technologies, Danvers, MA). La tirosina cinasa de EGFR se obtuvo como proteína de fusión GST-cinasa, que se produjo usando un sistema de expresión de baculovirus con un constructo que expresaba EGFR humano (His672-Ala1210) (Nº de Registro GenBank NM\_005228) con una etiqueta GST amino-terminal. La proteína fue purificada por cromatografía de afinidad de una etapa usando glutatión-agarosa. Se usó un anticuerpo monoclonal anti-fosfotirosina, P-Tyr-100, para detectar la fosforilación de péptidos sustrato biotinilados (EGFR), Biotin-PTP1B (Tyr66). La actividad enzimática se ensayó en HEPES 60 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, MnCl<sub>2</sub> 5 mM, ATP 200 μM, DTT 1,25 mM, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 3 μM, péptido 1,5 mM, y 50 ng de Cinasa de Receptor EGF. El anticuerpo unido se detectó usando el sistema DELFIA (PerkinElmer, Wellesley, MA) que consistía en IgG Antirratón marcado con Europio DELFIA® (PerkinElmer, #AD0124), DELFIA® Enhancement Solution (PerkinElmer, #1244-105), y una placa de 96 pocillos, revestida con Estreptovidina DELFIA® (PerkinElmer, AAAND-0005). La fluorescencia se midió en un lector de placas WALLAC Victor 2 y se reportó como unidades de fluorescencia relativa (RFU). Los datos se representaron usando GraphPad Prism (v4.0a) y las IC<sub>50</sub>'s se calcularon usando un algoritmo que se ajustaba a una curva dosis respuesta sigmoidal.

45 Los compuestos de ensayo se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) para dar una concentración patrón de trabajo de 20 mM. Cada ensayo se configuró como sigue: Se añadieron 100 μl de ATP 10 mM a 1,25 ml de péptido 6 mM sustrato. Se diluyó la mezcla con dH<sub>2</sub>O a 2,5 ml para un cóctel ATP/sustrato 2X ([ATP]=400 mM, [sustrato] =3 mM). Inmediatamente se transfirió la enzima de -80°C a hielo. Se dejó que la enzima se descongelara en el hielo. Se microcentrifugó brevemente a 4°C para llevar el líquido al fondo del vial. Se devolvió inmediatamente al hielo. Se añadieron 10 μl de DTT (1,25 mM) a 2,5 ml de Tampón HTScan™ Tyrosine Kinase 4X (240 mM HEPES 240 mM pH 7,5, MgCl<sub>2</sub> 20 mM, MnCl 20 mM, NaVO<sub>3</sub> 12 mM) para preparar el tampón DTT/Cinasa. Transferencia de 1,25 ml de tampón DTT/Cinasa al tubo de la enzima para preparar un cóctel de reacción 4X ([enzima] = 4 ng/μL en el cóctel de reacción 4X). Se incubaron 12,5 μl del cóctel de reacción 4X con 12,5 μl/pocillo de compuesto de interés prediluido (usualmente alrededor de 10 μM) durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 25 μl de cóctel ATP/sustrato 2X a 25 μl/pocillo del cóctel de reacción/compuesto preincubado. Se incubó la placa de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadieron 50 μl/pocillo de Tampón de Detención (EDTA 50 mM, pH 8)

para detener la reacción. Se transfirieron 25 µl de cada reacción y 75 µl de dH<sub>2</sub>O/pocillo a una placa revestida de estreptovidina de 96 pocillos y se incubó a temperatura ambiente durante 60 minutos. Se lavó tres veces con 200 µl/pocillo de PBS/T (PBS, 0,05% de Tween-20). Se diluyó el anticuerpo primario, Phospho-Tyrosine mAb (P-Tyr-100), 1:1000 en PBS/T con suero de albúmina bovina (BSA) al 1%. Se añadieron 100 µl/pocillo de anticuerpo primario. Se incubó a temperatura ambiente durante 60 minutos. Se lavó tres veces con 200 µl/pocillo de PBS/T. Se diluyó el IgG anti-ratón marcado con Europio 1:500 en PBS/T con BSA al 1%. Se añadieron 100 µl/pocillo de anticuerpo diluido. Se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se lavó cinco veces con 200 µl/pocillo de PBS/T. Se añadieron 100 µl/pocillo de DELFIA® Enhancement Solution. Se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se detectó la emisión de fluorescencia a 615 nm con un Lector de Placas de Tiempo Resuelto.

5 (b) Un ensayo in vitro que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la fosforilación de EGFR estimulada por EGF.

Se permitió el crecimiento de células A431 en un matraz T75 usando procedimientos de cultivo tisular estándar hasta que las células alcanzaron casi la confluencia (~1,5x10<sup>7</sup> células; D-MEM, 10% de FBS). Bajo condiciones estériles se dispensaron 100 µl de la suspensión celular por pocillo en microplacas de 96 pocillos (x células en placa por pocillo). Se incubaron las células y se controló la densidad celular hasta que se consiguió la confluencia con consistencia pocillo a pocillo; aproximadamente tres días. Se retiraron los medios completos de los pocillos de la placa por aspiración o desplazamiento manual. Se reemplazaron los medios con 50 µl de medios exentos de suero precalentados por pocillo y se incubó 4 a 16 horas. Se hicieron diluciones en serie en dos veces del inhibidor usando D-MEM precalentado, con lo que la concentración final de inhibidor oscilaba de 10 µM a 90 pM. Se retiraron los medios de la placa de células A431. Se añadieron 100 µl del inhibidor diluido en serie a las células y se incubó 1 a 2 horas. Se retiró el inhibidor de los pocillos de la placa por aspiración o desplazamiento manual. Se añadió bien medio exento de suero para células en descanso (imitación) o bien medio exento de suero con 100 ng/ml de EGF. Se usaron 100 µl de medio de descanso/activación por pocillo. Se dejó en incubación a 37 °C durante 7,5 minutos. Se retiró el medio de activación o estimulación manualmente o por aspiración. Inmediatamente se fijaron las células con formaldehído al 4% en PBS 1X. Se permitió la incubación sobre el banco de trabajo durante 20 minutos a TA sin agitación. Se lavó cinco veces con PBS 1X que contenía 0,1% de Triton X-100 durante 5 minutos por lavado. Se retiró la Disolución de Fijado. Usando un pipeteador multicanales, se añadieron 200 µl de Disolución de Lavado Triton (1X PBS + 0,1% de Triton X-100). Se dejó que el lavado se agitara en un agitador rotatorio durante 5 minutos a temperatura ambiente. se repitieron las etapas de lavado 4 veces más después de retirar el lavado manualmente. Usando un pipeteador multicanales, se bloquearon las células/pocillos añadiendo 100 µl del tampón LI-COR Odyssey Blocking Buffer a cada pocillo. Se dejó bloquear durante 90 minutos a TA con agitación moderada en un agitador rotatorio. Se añadieron los dos anticuerpos primarios a un tubo que contenía el tampón Odyssey Blocking Buffer. Se mezcló la disolución del anticuerpo primario justo antes de la adición a los pocillos (Phospho-EGFR Tyr1045, (Conejo; dilución 1:100; Cell Signaling Technology, 2237; EGFR Total, Ratón; dilución 1:500; Biosource International, AHR5062). Se retiró el tampón de bloqueo de la etapa de bloqueo y se añadieron 40 µl del anticuerpo primario deseado o anticuerpos en tampón Odyssey Blocking Buffer para cubrir el fondo de cada pocillo. Se añadieron 100 µl del tampón Odyssey Blocking Buffer sólo a los pocillos de control. Se incubó con el anticuerpo primario durante una noche con agitación suave a TA. Se lavó la placa cinco veces con 1x PBS + 0,1% de Tween-20 durante 5 minutos a TA con agitación suave, usando una cantidad generosa de tampón. Usando un pipeteador multicanales se añadieron 200 µl de Disolución de Lavado Tween. Se dejó que el lavado se agitara en un agitador rotatorio durante 5 minutos a TA. Se repitieron las etapas de lavado 4 veces más. Se diluyó el anticuerpo secundario marcado fluorescentemente en Tampón de Bloqueo Odyssey (anti-ratón de cabra IRDye™ 680 (dilución 1:200; LI-COR Cat.# 926-32220) anti-conejo de cabra IRDye™ 800CW (dilución 1:800; LI-COR Cat.# 926-32211). Se mezclaron las disoluciones de anticuerpo bien y se añadieron 40 µl de la disolución de anticuerpo secundario a cada pocillo. Se incubó durante 60 minutos con agitación suave a TA. Se protegió la placa de la luz durante la incubación. Se lavó la placa cinco veces con 1x PBS + 0,1% de Tween-20 durante 5 minutos a TA con agitación suave, usando una cantidad generosa de tampón. Usando un pipeteador multicanales se añadieron 200 µl de Disolución de Lavado Tween. Se dejó que el lavado se agitara en un agitador rotatorio durante 5 minutos a TA. Se repitieron las etapas de lavado 4 veces más. Después del lavado final, se retiró la disolución de lavado completamente de los pocillos. Se volvió la placa boca abajo y se le dieron pequeños golpes o se secó suavemente con toallas de papel para retirar las trazas de tampón de lavado. Se escaneó la placa con detección tanto en los canales 700 como 800 usando el Sistema de Obtención de Imágenes de Infrarrojos Odyssey (detección a 700 nm para el anticuerpo IRDye™ 680 y detección a 800 nm para el anticuerpo IRDye™ 800CW). Se determinó la relación de proteína total a fosforilada (700/800) usando el programa informático Odyssey, y se representaron los resultados en GraphPad Prism (v4.0a). Los datos se representaron usando GraphPad Prism (v4.0a) y las IC<sub>50</sub>'s se calcularon usando un algoritmo que se ajustaba a una curva dosis respuesta sigmoidal.

(c) Un ensayo in vitro que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la actividad de la enzima HDAC.

Se cribaron inhibidores de HDAC usando un kit de ensayo fluorométrico HDAC (AK-500, Biomol, Plymouth Meeting, PA). Los compuestos de ensayo se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) para dar una concentración patrón de trabajo de 20 mM. La fluorescencia se midió en un lector de placas WALLAC Victor 2 y se reportó como unidades de fluorescencia relativa (RFU). Los datos se representaron usando GraphPad Prism (v4.0a), y las IC<sub>50</sub>'s se calcularon usando un algoritmo que se ajustaba a una curva dosis respuesta sigmoidal. Cada ensayo se configuró como sigue:

Se descongelaron todos los componentes del kit y se mantuvieron en hielo hasta el uso. Se diluyó el extracto nuclear HeLa 1:29 en tampón de Ensayo (Tris/Cl 50 mM, pH 8,0, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM). Se prepararon diluciones de Tricostatina A (TSA, control positivo) y compuestos ensayados en tampón de ensayo (5x de concentración final). Se diluyó sustrato Fluor de Lys<sup>TM</sup> en tampón de ensayo a 100  $\mu$ M (50 veces = 2x final). Se diluyó concentrado revelador Fluor de Lys<sup>TM</sup> 20 veces (p.ej. 50  $\mu$ l más 950  $\mu$ l de Tampón de Ensayo) en tampón de ensayo frío. Segundo, se diluyó la Tricostatina A 0,2 mM 100 veces en el Revelador 1x (p.ej. 10  $\mu$ l en 1 ml; concentración final de Tricostatina A en el Revelador 1x = 2  $\mu$ M; concentración final después de la adición a la reacción HDAC/Sustrato = 1  $\mu$ M). Se añadió el tampón de ensayo, tricostatina A diluida o inhibidor de ensayo a pocillos apropiados de la placa de microtitulación. Se añadió extracto de HeLa diluido u otra muestra de HDAC a todos los pocillos, excepto para los controles negativos. Se dejó que el sustrato Fluor de Lys<sup>TM</sup> diluido y las muestras en la placa de microtitulación se equilibraran a la temperatura de ensayo (p.ej. 25 o 37°C). Se iniciaron las reacciones HDAC añadiendo sustrato diluido (25  $\mu$ l) a cada pocillo y mezclando profusamente. Se dejó proceder las reacciones HDAC durante 1 hora y después se detuvieron por adición de Revelador Fluor de Lys<sup>TM</sup> (50  $\mu$ l). Se incubó la placa a temperatura ambiente (25°C) durante 10-15 min. Se leyeron las muestras en un fluorímetro lector de placas de microtitulación capaz de medir la excitación a una longitud de onda en el intervalo 350-380 nm y detección de luz emitida en el intervalo 440-460 nm.

La siguiente TABLA B enumera compuestos representativos de la invención y su actividad en ensayos HDAC y EGFR. En estos ensayos, se usó la siguiente clasificación: I > 10  $\mu$ M, 10  $\mu$ M > II > 1  $\mu$ M, 1  $\mu$ M > III > 0,1  $\mu$ M, y IV  $\leq$  0,1  $\mu$ M para IC<sub>50</sub>.

20

TABLA B

Compuesto N°	HDAC	EGFR
1	I	IV
2	I	IV
3	I	IV
4	III	IV
5	IV	IV
6	IV	IV
7	I	IV
8	I	IV
9	III	IV
10	III	IV
11	IV	IV
12	IV	IV
13	I	IV
14	II	IV
15	IV	III
16	III	IV
17	IV	IV
18	IV	IV

ES 2 526 718 T3

Compuesto N°	HDAC	EGFR
19	I	IV
21	II	III
22	IV	IV
23	IV	III
24	IV	III
30	IV	IV
36	IV	IV
38	II	IV
40	IV	IV
42	III	IV
43	III	IV
44	IV	IV
45	I	III
50	III	III
63	III	II
66	III	IV
68	II	IV
69	III	IV
70	IV	IV
75	IV	IV
76	IV	IV
77	IV	IV
78	IV	III
79	IV	IV
80	IV	II
81	III	III
82	III	III
83	IV	I

Compuesto N°	HDAC	EGFR
84	IV	III
85	IV	IV
86	IV	III
87	IV	III
88	IV	IV
89	IV	III
90	IV	N/D
91	II	IV
92	III	IV
93	II	IV
94	I	IV

Se ensayó un número representativo de compuestos contra varias líneas celulares diferentes usando el ensayo de proliferación celular:

Ensayo de proliferación celular:

- 5 Se pusieron en placa líneas celulares de cáncer a 5.000 a 10.000 por pocillo en placas de fondo plano de 96 pocillos con diversas concentraciones de compuestos. Las células se incubaron con los compuestos durante 72 horas en presencia de suero bovino fetal al 0,5%. La inhibición del crecimiento se evaluó mediante un ensayo del contenido de trifosfato de adenosina (ATP) usando el kit Perkin Elmer ATPlite. ATPlite es un sistema de seguimiento de ATP basado en luciferasa de luciérnaga. Brevemente, se añadieron 25 µl de disolución de lisis celular de mamífero a 50 µl de medio de cultivo exento de rojo fenol por pocillo para lisar las células y estabilizar el ATP. Después se añadieron 25 µl de disolución de sustrato al pocillo, y posteriormente se midió la luminiscencia.

Los resultados se presentan a continuación en la TABLA C. En estos ensayos, se usó la siguiente clasificación: I ≥ 10 µM, 10 µM > II > 1 µM, 1 µM > III > 0,1 µM, y IV ≤ 0,1 1 µM para IC<sub>50</sub>.

TABLA C

Línea Celular	Compuesto N°									
	6	12	18	40	44	66	70	77	79	85
Mama_MCF7		IV								
Mama MDAMB468		IV								
Mama_SkBr3		III								
Colon_HCT116		III	III							III
Epidermoide A431		III								
Pulmón_H1703	III	III			II					
Pulmón_H1975	III	III			II					

Línea Celular	Compuesto N°									
	6	12	18	40	44	66	70	77	79	85
Pulmón_H2122	III	III			II					
Pulmón_H292		IV								
Pulmón_H358	III	III			II					
Pulmón_H460	III	III			II					
Pulmón_HCC827	IV	III			III					
Páncreas_BxPC3	III	IV	III	II	II	II	II	II	II	III
Páncreas_Capan1	II	III			II					
Páncreas_CFPAC		III	III	II		I	II	II	II	II
Páncreas_HPAC		II	II	II		II	I	I	I	II
Páncreas_MiaPaCa2		III	III	II		II	II	III	II	II
Páncreas_PANC1		III	III	II		II	II	I	II	II
Próstata_22RV1		III								
Próstata_PC3	III	III								

La Figura 1 muestra que compuestos de la invención, tales como los compuestos 6 y 12, son más activos que erlotinib y SAHA en el ensayo de la enzima EFGR y el ensayo de la enzima HDAC. En el ensayo de la enzima EFGR, los compuestos de la invención son más potentes que erlotinib en aproximadamente 15-20 veces. En el ensayo de la enzima HDAC, los compuestos de la invención son más potentes que SAHA en aproximadamente 5-10 veces.

La Figura 2 ilustra la mejora en inhibición de la acetilación de histona y fosforilación de EGFR por el compuesto 12 en comparación con SAHA y Erlotinib respectivamente. Inhibición tanto en dianas de cáncer cinasa (EGFR) como no cinasa (HDAC) por el compuesto 12.

La Tabla D ilustra la potencia de los compuestos de la invención. Por ejemplo, el compuesto 12 es más activo que Erlotinib y SAHA en diversas líneas celulares de cáncer (IC<sub>50</sub> en  $\mu\text{M}$ ). Líneas celulares de cinco tipos principales de cáncer (pulmón, mama, próstata, colon y páncreas) respondieron mejor al compuesto 12 que una combinación de erlotinib y SAHA. Sorprendentemente, los compuestos de la invención son activos contra líneas celulares que son resistentes a Tarceva® e Iressa®. En estos ensayos, se usó la siguiente clasificación: D  $\geq$  5  $\mu\text{M}$ , 5  $\mu\text{M}$  > C  $\geq$  0,5  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  > B  $\geq$  0,05  $\mu\text{M}$ , y A  $\leq$  0,05  $\mu\text{M}$  para IC<sub>50</sub>.

TABLA D

Línea de tumor	Tipo de tumor	SAHA	Erlotinib	Erlotinib/SAHA combinados	Compuesto 12
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama	B	D	B	A
HCT116	Cáncer de colon	C	D	C	A
MCF-7	Adenocarcinoma de mama	C	D	C	A
MDA-MB-468	Adenocarcinoma de mama	C	C	C	A



<b>SKBr3</b>	Carcinoma de mama	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>C</b>	<b>B</b>
<b>PC-3</b>	Adenocarcinoma de próstata	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>C</b>	<b>C</b>
<b>Caki-1</b>	Carcinoma renal	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>A</b>
<b>A431</b>	Carcinoma epidermoide	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>B</b>
<b>22RV1</b>	Carcinoma de próstata	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>

La Figura 3 muestra ejemplos de mayor actividad anti-proliferativa contra varias líneas celulares de cáncer diferentes. La Figura 3 muestra además que los compuestos de la invención son más potentes que SAHA solo, Erlotinib solo, y SAHA y Erlotinib combinados.

- 5 La Figura 4 muestra la potencia del compuesto 12 en inducción de apoptosis en células de cáncer de colon y mama. El compuesto 12 indujo aproximadamente 4-11 veces más apoptosis celular, medido por una actividad de Caspasa 3&7 aumentada. Erlotinib fue inactivo a una concentración de <20 µM. La alta potencia mostrada por el compuesto 12 sobre Erlotinib sugiere que los compuestos de la invención se pueden usar para tratar células tumorales que son resistentes a Erlotinib.
- 10 Las Figuras 5-10 ilustran la eficacia del compuesto 12 en diversos modelos de xenoinjerto de tumor. La Tabla E a continuación resume los experimentos in vivo que se llevaron a cabo para dar los resultados representados en las Figuras 5-10.

TABLA E

<b>Modelo</b>	<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Grupos de dosificación</b>	<b>Método de administración</b>	<b>Régimen de dosificación (sí-no-sí)</b>	<b>Tamaño del tumor en pretratamiento</b>
A431	Epidermoide	vehículo 6 mg/kg 12 mg/kg 24 mg/kg 48 mg/kg	IP	Una vez al día durante 21 días	156±57 mm <sup>3</sup>
H358	NSCLC	vehículo 15 mg/kg 30 mg/kg 60 mg/kg	infusión IV-2min	7-7-5	84±23 mm <sup>3</sup>
H292	NSCLC	vehículo 15 mg/kg 30 mg/kg 60 mg/kg	infusión IV-2min	7-7-5	116±23 mm <sup>3</sup>
BxPC3	Pancreático	vehículo 10 mg/kg 20 mg/kg 40 mg/kg	infusión IV-2min	7-7-2	201±53 mm <sup>3</sup>

PC3	Próstata	vehículo 10 mg/kg 20 mg/kg 40 mg/kg	infusión IV-2min	7-7-5	195±50 3 mm
HCT116	Colon	vehículo 15 mg/kg 30 mg/kg 60 mg/kg SAHA 20 mg/kg	infusión IV-2min	5-2-5	91±23mm <sup>3</sup>
HCC827 (apóptosis/anti-proliferación)	NSCLC	vehículo 30 mg/kg	infusión IV 2min	Una vez al día durante 3 días	149±36 3 mm
BxPC3 (apóptosis/anti-proliferación)	Pancreático	60 mg/kg	infusión IV 2min	infusión IV única	ND

Un protocolo representativo para el experimento in vivo es como sigue:

5 Se implantaron 1-10 x 10<sup>6</sup> células de cáncer humano subcutáneamente en los ratones (nu/nu) atímicos. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 100 mm<sup>3</sup> de volumen, los ratones se trataron con el compuesto por infusión en la vena de la cola. Rutinariamente se necesitan 5 grupos (8-12 ratones por grupo) para un estudio de eficacia típico, incluyendo un control negativo, un control positivo, y tres grupos de ensayo para 3 niveles de dosis del mismo compuesto. Usualmente se usó un régimen de 7-7-5 (sí-no-sí) para un estudio típico. El tamaño del tumor se midió con un calibre electrónico y el peso corporal se midió con una escala dos veces a la semana. Los tumores se retiraron de los ratones muertos por eutanasia al final del estudio. Una mitad de cada tumor se congeló en hielo seco y se almacenó a -80° C para análisis PK o Western blot. La otra mitad se fijó con formalina. Los tejidos fijados se procesaron, se incrustaron en parafina y se seccionaron para tinción inmunohistoquímica.

Protocolo para ensayo por radioisótopos para HER2

15 Se pusieron HER2 10 nM y polyEY 0,1 mg/ml en el tampón de reacción y se añadieron MnCl<sub>2</sub> 2 mM, ATP 1 μM y DMSO 1% final. La mezcla de reacción se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. La tasa de conversión del ATP fue 22%.

20 HER2 (Número de registro: GenBank X03363) se caracteriza como sigue: HER2 humano, recombinante, etiquetado con GST N-terminal, aminoácidos 679-1255, expresado por baculovirus en células de insecto Sf9. Pureza >90% por SDS PAGE y tinción con azul Coomassie. PM = 91,6kDa. Actividad Específica de 40 U/mg, donde una unidad de actividad se define como 1 nmol de fosfato incorporado en 30 ug/ml de sustrato Poly (Glu:Tyr)<sub>4</sub>:1 por minuto a 30°C con una concentración final de ATP de 100 μM. La enzima está en Tris-HCl 25 mM, pH 8,0, NaCl 100 mM, Tween-20 0,05%, glicerol 50%, glutatión reducido 10 mM, y DTT 3 mM.

Referencias:

1. Meyer, M. et al., EMBO J. 18, 363-374 (1999)
2. Rahimi, N. et al., J. Biol Chem 275, 16986-16992 (2000)

25 Se encuentra que los compuestos de la invención son activos contra diversas cinasas. Por ejemplo, la Tabla F muestra la inhibición del compuesto 12 en un panel de ensayos de cinasa. Además, el compuesto 12 es mucho más activo que Erlotinib en el ensayo Her-2.

TABLA F

Ensayos	Concentración ( $\mu\text{M}$ )	Inhibición (%)
Cinasa Abl	5	57
Cinasa FGFR2	5	73
Cinasa FLT-3	5	85
Cinasa EGFR2	5	64
Cinasa Lck	5	56
Cinasa Lyn	5	95
Cinasa Ret	5	93
Her-2 IC50 del Compuesto 12, = 188 nM IC50 de Erlotinib = 1473 nM		

Ejemplo 52: Preparación de la formulación en Captisol del compuesto 12

A. Preparación de disoluciones de 25, 30, 40, 50 y 60 mg/ml del compuesto 12 en Captisol al 30%

5 (i) Con ácido tartárico

Se preparó una formulación de Captisol al 30% añadiendo 2,7 ml de agua a un vial que contenía 0,9 g de Captisol. La mezcla se mezcló después en un agitador vórtex para dar ~3 ml de una disolución transparente.

10 Para preparar una formulación de una disolución de 25 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 25 mg del compuesto 12 y 8,6 mg de ácido tartárico, y la mezcla resultante se mezcló en un agitador vórtex o se sonicó a 30°C durante 15 a 20 minutos para dar una disolución amarillenta transparente. La disolución resultante es estable a temperatura ambiente.

Para preparar una formulación de una disolución de 30 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 30 mg del compuesto 12 y 10,4 mg de ácido tartárico (1,0 eq) a temperatura ambiente.

15 Para preparar una formulación de una disolución de 40 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 40 mg del compuesto 12 y 17,9 mg de ácido tartárico (1,3 eq) a 36°C.

Para preparar una formulación de 50 mg/ml del compuesto 12 en Captisol, se añadió 1 ml de Captisol al 30% a 50 mg del compuesto 12, 22,5 mg de ácido tartárico (1,3 eq) a 37°C.

20 Para preparar una formulación de 60 mg/ml del compuesto 12 en Captisol, se añadió el Captisol al 30% a un vial que contenía 60 mg del compuesto 12 y 26,9 mg de ácido tartárico (1,3 eq) a 36°C. La disolución se diluyó en agua 1X y D5W 2X. La disolución diluida es estable a temperatura ambiente durante >12 h.

(ii) Con ácido cítrico

25 Para preparar una formulación de una disolución de 25 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 25 mg del compuesto 12 y 11,1 mg de ácido cítrico (1,0 eq), y la mezcla resultante se mezcló en un agitador vórtex o se sonicó a temperatura ambiente durante 15 a 20 minutos para dar una disolución amarillenta transparente.

(iii) Con ácido clorhídrico

Para preparar una formulación de una disolución de 25 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 25 mg del compuesto 12 y 57,5  $\mu\text{l}$  de ácido clorhídrico (1,0 eq), y la mezcla

resultante se mezcló en un agitador vórtex o se sonicó a temperatura ambiente durante 15 a 20 minutos para dar una disolución amarillenta transparente.

(iii) Con sal de sodio

5 Para preparar una formulación de una disolución de 7,5 mg/ml del compuesto 12, se añadió 1 ml de la disolución de Captisol al 30% a un vial que contenía 7,5 mg del compuesto 12, sal de sodio, y la mezcla resultante se mezcló en un agitador vórtex o se sonicó a temperatura ambiente durante 15 a 20 minutos para dar una disolución amarillenta transparente.

B. Filtración de la disolución

10 Las formulaciones del compuesto 12 de A (i) se filtró a través de un filtro preesterilizado de 0,2 µm con >98% de recuperación.

C. Preparación de un liofilizado

Las formulaciones del compuesto 12 (25 mg/ml) de A (i) y A (iii) se liofilizaron para formar un liofilizado como un polvo amarillo.

15 El liofilizado resultado de la formulación A (i) fue químicamente estable a la siguientes temperaturas, -20°C, temperatura ambiente, y 40°C durante al menos 2 semanas. Puede ser almacenado a 4°C durante más que 2 semanas sin descomposición. El liofilizado resultado de A (iii) fue estable a -20°C durante al menos dos semanas.

D. Estudio de dilución

Las formulaciones del compuesto 12 de A (i) se diluyeron con D5W (10, 20, y 50 veces) y fueron químicamente estables y permanecieron en disolución sin precipitación (>48 horas).

20 Las formulaciones del compuesto 12 de A (ii), A (iii) y A (iiii) se diluyeron con D5W (10 veces) y permanecieron en disolución sin precipitación (>12 horas).

Ejemplo 53: Características de sales o complejos de sodio, hidrocloreuro, ácido cítrico y ácido tartárico o del compuesto 12 formuladas en CAPTISOL

25 Se prepararon sales de sodio, hidrocloreuro, citrato y tartrato de un compuesto de ensayo de Fórmula I en disoluciones de CAPTISOL al 30% y se estudiaron para lo siguiente:

La Tabla G muestra las propiedades fisicoquímicas, así como farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD) de sales de sodio, hidrocloreuro, ácido cítrico y ácido del Compuesto 12.

TABLA G

	<b>Sodio</b>	<b>HCl</b>	<b>Ácido cítrico</b>	<b>Ácido tartárico</b>
<b>Solubilidad</b>	7,5 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	60 mg/mL
<b>pH</b>	10-11	2-3	4-5	3-4
<b>IV Tejido</b>	Alto	Alto	Bajo	Alto
<b>Dilución con D5W</b>	>10x	>10x	>10x	>50x
<b>Estabilidad química en disolución diluida</b>	>12 h	>12 h	>12 h	>12 h
<b>Estabilidad química a las 2 semanas en liofilizado</b>	ND	-20°C	ND	-20°C, TA, 40°C
<b>Dosis diaria más alta administrable en seres humanos</b>	220-250 mg	>750 mg	>750 mg	> 1800 mg

Ejemplo 54: Comparación de la actividad anti-tumor de la composición del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% y erlotinib, un prototipo de EGFRi, en modelo de xenoinjerto A549 NSCLC

5 La administración del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% atenuó el crecimiento del tumor en el modelo de xenoinjerto NSCLC. Como se muestra en la FIG. 11A, después de 24 horas, los animales tratados con el compuesto 12 mostraron un aumento de 150% en el tamaño del tumor, mientras que los animales tratados con vehículo mostraron aproximadamente un cambio de 240% en el tamaño del tumor. Como se muestra en la FIG. 11B, el tratamiento de los animales con Erlotinib no afectó significativamente al tamaño del tumor en comparación con el control.

10 Ejemplo 55: Efecto de la composición del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% en células de cáncer pancreático HPAC

Se administraron 120 mg/kg de compuesto 12 en CAPTISOL al 30%, 50 mg/kg de erlotinib o vehículo a animales diariamente, y se midió el cambio en el tamaño del tumor con el tiempo (días). Como se muestra en la FIG. 12A, la administración de 120 mg/kg de compuesto 12 en CAPTISOL al 30% (iv/ip) dio como resultado mayor atenuación del crecimiento del tumor que erlotinib (po) o vehículo.

15 Estudios farmacocinéticos en ratones, ratas y perros

Los métodos experimentales usados para los Ejemplos 56-64 se describen a continuación. Animales: Se usaron ratones (CD-1, macho, 25-30 g), ratas (Sprague Dawley, 260-300 g) y perros (Beagles, macho, 9-11 kg) para los estudios PK. Los animales fueron provistos con comida en gránulos y agua ad libitum y se mantuvieron en una sala acondicionada a 23±1 °C, humedad de 50 - 70%, y un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad.

20 Preparación y Administración de fármaco. El compuesto 12 se disolvió en CAPTISOL al 30% con concentración molar igual de ácido tartárico o HCl o ácido cítrico, o NaOH. El compuesto se administró por medio de una infusión intravenosa (iv). Las condiciones para la infusión iv para cada animal se muestran a continuación:

Ratón: 20 mg/kg y 60 mg/kg para 2 min de infusión i.v.

Rata: 20 mg/kg para 5 min de infusión i.v.

25 Beagle: 25 mg/kg para 30 min de infusión i.v.

Recogida de muestras de sangre y tejidos. La sangre se recogió en tubos que contenían heparina sódica anticoagulante en diversos puntos de tiempo. El plasma se separó por centrifugación y se almacenó a -40°C antes del análisis.

30 Extracción de muestras de plasma. Se prepararon muestras de plasma por precipitación de proteínas. Se añadió un patrón interno a las muestras de plasma. 50 µl de plasma se combinaron con 150 µl de acetonitrilo, se agitaron en vórtex, y se centrifugaron durante 10 min a 10000 rpm. Después el sobrenadante se inyectó en LC/MS/MS.

Las muestras se compararon con patrones hechos en plasma. Estos patrones se prepararon por dilución en serie. Se añadió un patrón interno al plasma con patrón.

35 Extracción de muestras de tejidos. Se usaron muestras de pulmón y colon (20-200 mg) para la extracción. Los tejidos se homogeneizaron en 0,8 ml de agua. Se añadió un patrón interno a los homogenatos de tejido. Los homogenatos se extrajeron con 1 ml de acetato de etilo por tres veces. Después de la evaporación, el residuo se reconstituyó en 0,1 ml de acetonitrilo para el ensayo LC/MS/MS.

Métodos analíticos LC/MS/MS.

Las condiciones LC se muestran a continuación:

Instrumento LC:	Agilent HPLC 1100 Series
Automuestreador:	Agilent G1367A Autosampler
Columna analítica:	YMC Pro C18 S3 (3µ, 2,0*50 mm, 120 Å)
Columna de protección:	YMC Pro C18 S3 Guard Column (3 µ, 2,0*10 mm, 120 Å)
Temp. de columna:	en ambiente
Fase móvil:	A: acetonitrilo:agua:ácido fórmico (5:95:0,1, v/v/v)

	B: acetonitrilo:agua:ácido fórmico (95:5:0,1, v/v/v)	
Programa de gradiente LC	0~1 min:	fase móvil A: 100%
	1~2,5 min:	fase móvil A: 100% a 20%
	2,5~3 min:	fase móvil A: 20%
	3~4 min:	fase móvil A: 20% a 100%
Caudal:	200 µl/min	
Temp. del automuestreador:	en el ambiente	
Volumen de inyección:	5 µl	

Las condiciones del Espectrómetro de Masas se muestran a continuación:

Instrumento:	PE Sciex API 3000
Interfaz:	Turbo Ion Spray (TIS)
Polaridad:	Ión positivo
Barrido:	Seguimiento de reacción múltiple (MRM)

Estudio de toxicidad de dosis únicas o múltiples en ratones y ratas

5 Los métodos experimentales usados para los estudios de toxicidad a continuación se describen como sigue:

Diseño de los experimentos:

1. MDT (Máxima Dosis Tolerada) con dosificación única en ratones

a. ratones CD-1, macho, 24-26 gramos

b. Dosificación a 0, 50, 100, 200, 400 mg/kg, infusión iv 2 min

10 c. 8 ratones por grupo

2. MDT con dosificación única en ratas

a. Sprague Dawley, macho y hembra, 240-260 gramos

b. Dosificación a 0, 25, 50, 100, 200 mg/kg, infusión iv 5 min

c. 6 ratas por grupo (3 machos y 3 hembras)

15 3.- MDT con dosificación múltiple de 7 días en ratones

a. ratones CD-1, macho, 24-26 gramos

b. Dosificación a 0, 50, 100, 200 mg/kg/d ip

c. 6 ratones por grupo

d. La sangre y los órganos se recogerán 2 h después de la última dosificación en el Día 7 para hematología

20 4. MDT con dosificación múltiple de 7 días en ratas

a. Sprague Dawley, macho y hembra, 220-250 gramos

b. Dosis, 25, 50, 100, 200 mg/kg/d) infusión iv 5 min

c. 6 por grupo (3 machos y 3 hembras)

d. La sangre y los órganos se recogerán 2 h después de la última dosificación en el Día 7 para hematología

Preparación del compuesto.

5 El compuesto se disolvió en Captisol al 30% con concentración molar igual de ácido tartárico. Disolución patrón: 25 mg/ml de forma tartárica en Captisol al 30%, 1 ml/vial almacenado a -40°C. Por ejemplo, 1000 mg de compuesto, 345 mg de ácido tartárico (0,345 mg de ácido tartárico por mg de compuesto) y 40 ml de Captisol al 30% o 1.000 mg de compuesto, 2,3 ml de HCl 1N (2,3 ul de HCl 1N por mg de compuesto), 12 gramos de Captisol, se añade agua hasta 40 ml. La disolución patrón se diluye con CAPTISOL al 30% antes del uso.

10 Ejemplo 56: Farmacocinética de las sales de ensayo en plasma, pulmón y colon después de administración intravenosa

20 mg/kg sales de hidrocloreuro, citrato, sodio y tartrato del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% se administraron por vía intravenosa a ratones a fin de determinar la concentración (ng/ml) con el tiempo (horas) del compuesto 12 después de administración intravenosa (iv) en plasma, pulmón y colon. Los resultados de estos estudios se muestran en la FIG. 13. Como se muestra allí, la concentración de la sal de tartrato del compuesto 12 en plasma disminuyó de aproximadamente 10.000 ng/ml en 2 horas. En el pulmón, la concentración de la sal de tartrato del compuesto 12 en plasma disminuyó de aproximadamente 10.000 ng/ml en 6 horas. En el colon, la concentración de la sal de tartrato disminuyó de más de 1.000 ng/ml en 6 horas.

Ejemplo 57: Estudio farmacocinético de la formulación del compuesto 12 en ratones

20 20 mg/kg y 60 mg/kg de una sal de hidrocloreuro del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% se administró por vía intravenosa (iv) e intraperitoneal (ip) a ratones, y se determinaron la semivida (t1/2), la concentración máxima observada (Cmax) y el área bajo la curva (AUC). Como se muestra en la Tabla H a continuación, la concentración del compuesto 12 es proporcional a la dosis cuando se administra por vía intravenosa pero no intraperitoneal. La semivida del compuesto 12 en tejido es mayor que en plasma.

25 TABLA H

	Plasma		Pulmón		Colon	
	20 mgkg	60 mg/kg	20 mgkg	60 mg/kg	20 mgkg	60 mg/kg
<b>Dosis IV</b>						
T 1/2 (h)	0,2	0,3	3,9	1,9	1,7	2,2
Cmax (uM)	27,7	61,7	15,2	96,9	8,5	29,4
<b>Dosis IV</b>						
AUC (h*ng/ml)	715	3124	1571	8313	5529	13473
<b>Dosis IP</b>						
T 1/2 (h)	0,26	0,51	2,2	3,5	ND	ND
Cmax (uM)	8,5	14,4	7,8	11,6	ND	ND
AUC (h*ng/ml)	3751	5721	4433	8309	ND	ND

Ejemplo 58: Estudio farmacocinético de la formulación del compuesto 12 en ratas

30 20 mg/kg y 60 mg/kg de una sal de hidrocloreuro del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% se administraron (iv) a ratas, y se midió la concentración (ng/ml) del compuesto en plasma a lo largo de treinta horas. Como se muestra en la FIG. 14, la concentración del compuesto 12 en el plasma de la rata fue proporcional a la dosis del compuesto 12 administrada.

Ejemplo 59: Estudio de toxicidad de dosis única IV en ratones con la formulación del compuesto 12

Una dosis única del compuesto 12 (25, 50, 100, 200 o 400 mg/kg) en CAPTISOL al 30% se administró (iv) a ratones y se midió el cambio en el peso corporal a lo largo de nueve días para evaluar la toxicidad de las diversas dosis de compuesto 12. Como se muestra en la FIG. 15, la administración de hasta 200 mg/kg del compuesto 12 no dio como resultado un cambio significativo en el peso corporal.

Ejemplo 60: Estudio de toxicidad IP de repetición en siete días en ratones usando la formulación del compuesto 12

Una dosificación repetida del compuesto 12 a lo largo de siete días (25, 50, 100, 200 o 400 mg/kg) en CAPTISOL al 30% se administró (ip) a ratones y se midió el cambio en el peso corporal a lo largo de siete días. Como se muestra en la FIG. 16, la administración repetida de hasta 100 mg/kg del compuesto 12 no dio como resultado un cambio significativo en el peso corporal.

Ejemplo 61: Estudio de toxicidad de dosis única IV en ratas usando la formulación del compuesto 12

Una dosis única del compuesto 12 (25, 50, 100 o 200 mg/kg) en CAPTISOL al 30% se administró (iv) a ratas y se midió el cambio en el peso corporal a lo largo de ocho días para evaluar la toxicidad de las diferentes dosis de compuesto 12. Como se muestra en la FIG. 17, la administración de hasta 200 mg/kg no dio como resultado un cambio significativo en el peso corporal.

Ejemplo 62: Estudio de toxicidad IV de repetición de dosis en siete días en ratas usando la formulación del compuesto 12

Una dosificación repetida del compuesto 12 a lo largo de siete días (25, 50, 100 o 200 mg/kg) en CAPTISOL al 30% se administró (iv) a ratas y se midió el cambio en el peso corporal y consumo de comida a lo largo de siete días. Como se muestra en la FIG. 18, la administración de hasta 100 mg/kg no dio como resultado un cambio significativo en el peso corporal o consumo de comida.

Ejemplo 63: Estudio farmacocinético de la formulación del compuesto 12 en perros

25 mg/kg de una sal de tartrato del compuesto 12 en CAPTISOL al 30% se administraron a perros para estudiar la farmacocinética en el plasma. Los resultados de este estudio se muestran en la FIG. 19. Como se muestra allí, la concentración del compuesto 12 en plasma disminuyó de aproximadamente 10.000 ng/ml a menos que 10 mg/ml en 4 horas.

Ejemplo 64: Emulsiones del compuesto 12

Para demostrar la viabilidad de una emulsión con el compuesto 12 y comparar la solubilidad en diferentes combinaciones y emulsiones aceite/lípido, se hicieron las siguientes composiciones:

Composición

% p/p	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6	F-7	F-8	F-9
Compuesto 12	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Aceite de soja, super-refinado	10	20			5	10	10	10	5
Aceite de cártamo, super-refinado			10	20					
Triglicérido de cadena media (Miglyol 812)					5	10	10	10	5
Lecitina de soja (Phospholipon 90G o PL90G)	10	10	10	10	10				10
Lecitina de huevo (Lipoid E-80)						10			
Lecitina de soja (Lipoid s-100)							10		
Lecitina de soja (Lipoid s-75)								10	
Ácido oleico, super-refinado									0.028
Sacarosa, NF	18	18	18	18	18	18	18	18	18



ES 2 526 718 T3

% p/p	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6	F-7	F-8	F-9
Agua DI	61,8	51,8	61,8	51,8	61,8	51,8	51,8	51,8	62
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Composición

% p/p	F-10	F-11	F-12	F-13	F-14	F-15	F-16	F-17	F-18
Compuesto 12	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,5	0,5	0,2
Aceite de soja, super-refinado	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Miglyol 812							2,5	5	
Phospholipon 90G	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ácido oleico, super-refinado	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028	
Sacarosa	18	18	18	18	18	18	18	18	18
Agua DI	61,8	61,7	61,6	61,5	61,4	61,3	56,5	51,5	61,8
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Composición

% p/p	F-19	F-20	F-21	F-22	F-23	F-24	F-25
Compuesto 12	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,6	0,7
Aceite de soja, super-refinado	10	10	10	10	10	10	10
Miglyol 812				2,5	5	5	5
PL90G	10	10	10	10	10	10	10
Sacarosa	18	18	18	18	18	18	18
Agua DI	61,7	61,6	61,5	59	56,5	56,4	56,3
Total	100	100	100	100	100	100	100

5

Composición

% p/p	F-26	F-27	F-29	F-30	F-31
Compuesto 12	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Aceite de soja, super-refinado	20	20	20	20	20

## ES 2 526 718 T3

% p/p	F-26	F-27	F-29	F-30	F-31
Miglyol 812	10	10	10	10	10
PL90G	10	10	12	14	16
Ácido tartárico		0,1031			
Sacarosa	18	18	18	18	18
Agua DI	41,700	41,597	41,700	41,700	41,700
Total	100	100	100	100	100

### Procedimiento

5 El compuesto 12, aceite, lecitina, Miglyol y ácido oleico, como se indica, se añadieron a alcohol isopropílico hasta que todos los sólidos se disolvieron, y la disolución se mantuvo a bajo calor durante 2 h y después a calor medio durante una noche hasta que el disolvente residual fue menos que 2%. Se mezclaron sacarosa y agua DI para disolver la sacarosa. Las dos mezclas se homogeneizaron con un mezclador de alta velocidad (batidora de bolas) durante 200 s. El procedimiento fue sustancialmente el mismo para F-17 excepto que se interrumpió la homogeneización para ajustar el pH a 3 después de 100 s.

### Medida del tamaño de gotitas por dispersión de luz láser (Inicial)

Id. de Muestra	Diámetro medio (nm)			Media
F-1	104,0	103,0	102,0	103,0
F-2	141,0	139,0	131,0	137,0
F-3	90,9	91,4	91,1	91,1
F-4	131,0	134,0	133,0	132,7
F-5	101,0	100,0	98,8	99,9
F-5 filtrado	99,9	101,0	101,0	100,6
F-6	201,0	204,0	204,0	203,0
F-7	202,0	200,0	202,0	201,3
F-9	100,0	99,2	98,4	99,2
F-9 filtrado	101,0	99,0	101,0	100,3

10

La Formulación F-27 fue superior.

Ejemplo 65: Emulsiones del compuesto 12 con ácido tartárico hechas por microfluidización

Se hicieron las siguientes composiciones:

## ES 2 526 718 T3

### Composición

Material	Nº de lote, grado	F-27 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)	F-33 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)	F-34 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)
Compuesto 12	Lote Nº 23	0,3	300 mg	0,3	300 mg	0,3	300 mg
Aceite de soja, super-refinado	Lote Nº SB4-578, NF	20,0	20,0	16,5	16,5	10,9	10,9
Miglyol 812, Sasol	Lote Nº 030613	10,0	10,0	8,3	8,3	5,5	5,5
PL90G, Fosfolípido	Lote Nº 50660	10,0	10,0	8,3	8,3	5,5	5,5
Ácido tartárico, Spectrum	Lote nº VG0452	0,1031	103,1 mg	0,1031	103,1 mg	0,1031	103,1 mg
Sacarosa, Spectrum	Lote Nº UJ0812	18,0	18,0	14,9	14,9	9,8	9,8
Agua DI		41,6	41,6	51,6*	51,6	68,0**	68,0
Total		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
* 1,5X de contenido de agua que F-27							
**2X de contenido de agua que F-27							

- 5 Las composiciones se hicieron como sigue: Compuesto 12, aceite de soja, Miglyol 812 y PL90 se añadieron a un matraz redondo de 250 mL. Se añadieron aproximadamente 20 mL de acetona y se calentó la mezcla a 50 C para disolver. El disolvente se retiró mediante un Rotavap. La mezcla se calentó a 50°C en un baño de agua si era necesario. Se confirmó que el disolvente residual era menos que 1%. Se observó la transparencia y la cantidad de precipitado. Se mezclaron ácido tartárico, sacarosa y agua DI para disolver la sacarosa. Las dos disoluciones se microfluidizaron durante aproximadamente 20 pasos. El tamaño de gotitas se midió por LLS después de cada dos pasos (después de 10 pasos). Después se filtró la formulación F-34 a través de un filtro de 0,22 um.
- 10 Debido a la viscosidad de F-27, fue difícil microfluidizar. F-33 fue procesado durante 35 pasos, sin embargo, llegó a ser demasiado viscoso y no se pudo microfluidizar más. F-34 pudo ser microfluidizado, y el tamaño de gotitas fue 112 nm (7,4% >220 nm) después de 40 pasos. F-34 consiguió una emulsión altamente estable.

Para preparar una emulsión del compuesto 12 en lotes a 3 mg/g y vehículo para estudios animales.

### Composición

Materiales	vehículo de F-34 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)	F-34 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)
Compuesto 12, anhidro			0,3	365,2 mg
Aceite de soja, super-refinado	10,9	10,9	10,9	10,9
Miglyol 812, Sasol	5,5	5,5	5,5	5,5
PL90G, Fosfolípido	5,5	5,5	5,5	5,5

## ES 2 526 718 T3

Materiales	vehículo de F-34 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)	F-34 (% p/p)	Gm por tamaño de lote (100 g)
Ácido tartárico, Spectrum	0,1031	103,1 mg	0,1031	103,1 mg
Sacarosa, Spectrum	9,8	9,8	9,8	9,8
Agua DI	68,3	68,3	68,0	68,0
Total	100,0	50,0	100,0	100,0

La composición se hizo sustancialmente como anteriormente.

medida del pH (filtrado a 0,2 µm)

F-34 activa	3,25
Vehículo de F-34	2,59

5 medida del tamaño de gotitas por LLS (nm)

F-34 activa	107,2 ± 2,0
Vehículo de F-34	111,3 ± 0,6

Concentración por HPLC

(mg/mL)	
F-34 activa	3,00
Vehículo de F-34	0

Pureza, %

F-34 activa	99,1%
Vehículo de F-34	N/D

10

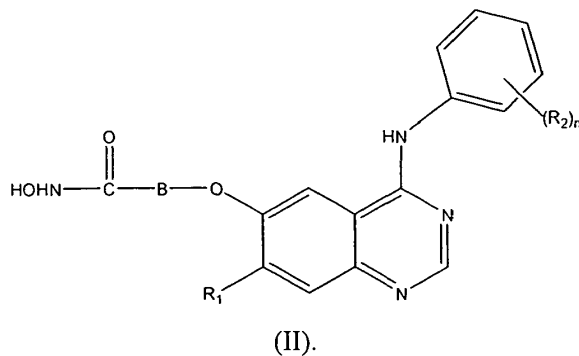
La patente y bibliografía científica referida en la presente memoria establece el conocimiento que está disponible para los expertos en la técnica.

15 Aunque esta invención ha sido mostrada y descrita particularmente con referencias a realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la técnica entenderán que se pueden hacer en la misma diversos cambios en forma y detalles, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica, que comprende:

(a) una sal de ácido tartárico o un complejo de ácido tartárico con un compuesto representado por la fórmula II:



5 en donde:

B es un alquileo C<sub>3</sub> a C<sub>9</sub>;

R<sub>1</sub> se selecciona de hidrógeno, alcoxi C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> o alcoxi C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> sustituido;

R<sub>2</sub> se selecciona independientemente cada uno de alquileo C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>, halógeno, alquilo C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> y alqueno C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>; y n es 1, 2 o 3;

10 (b) una ciclodextrina; y

(c) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

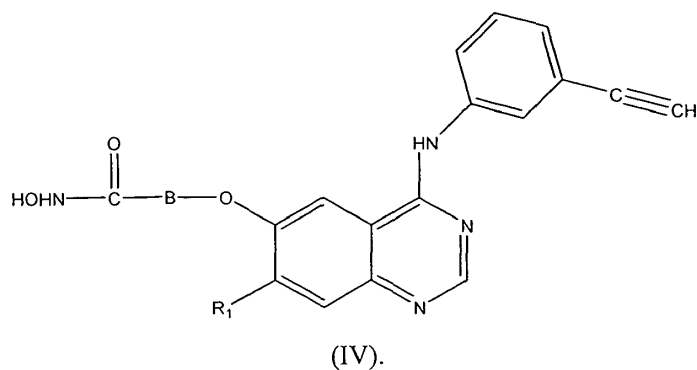
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde B es un alquileo C<sub>6</sub> de cadena lineal.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde n es 1.

4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en donde R<sub>2</sub> es etinilo.

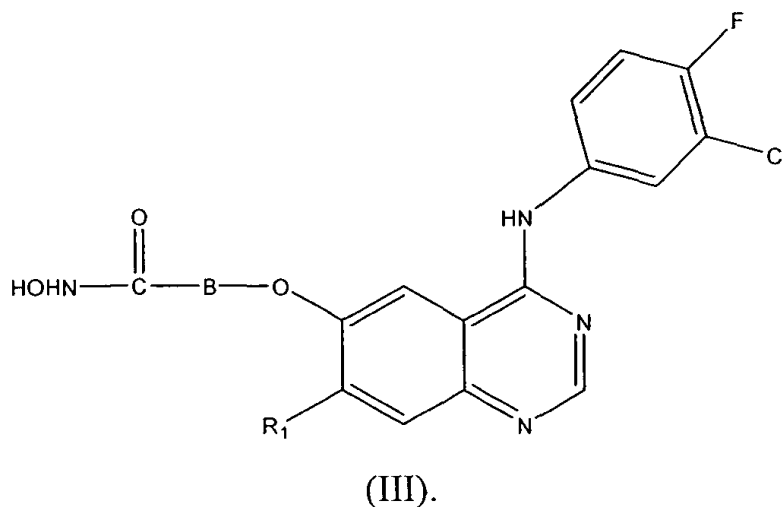
15 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde R<sub>1</sub> es metoxi.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde el compuesto se representa por la fórmula (IV):

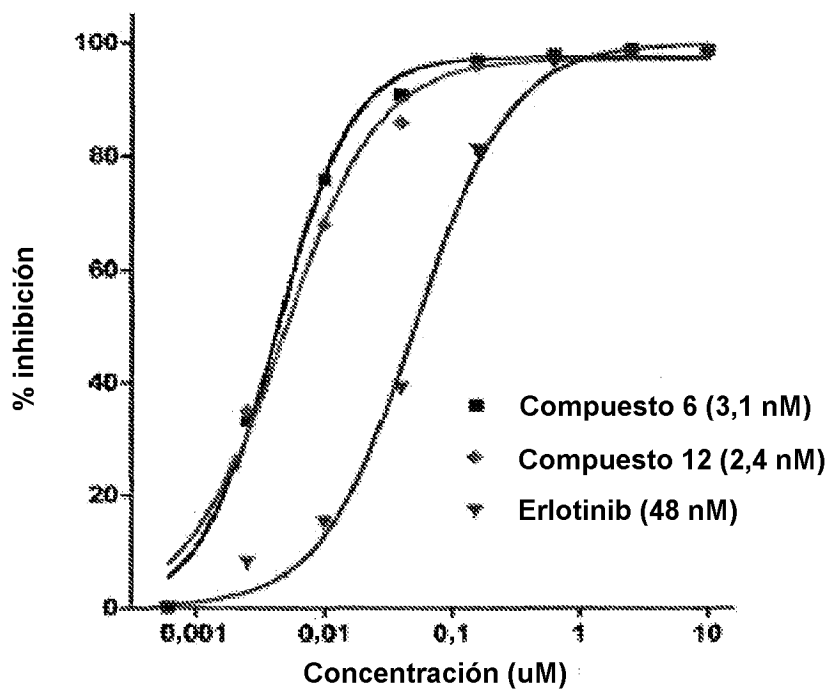


7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, en donde R<sub>1</sub> es metoxi y B es un alquileo C<sub>6</sub> de cadena lineal.

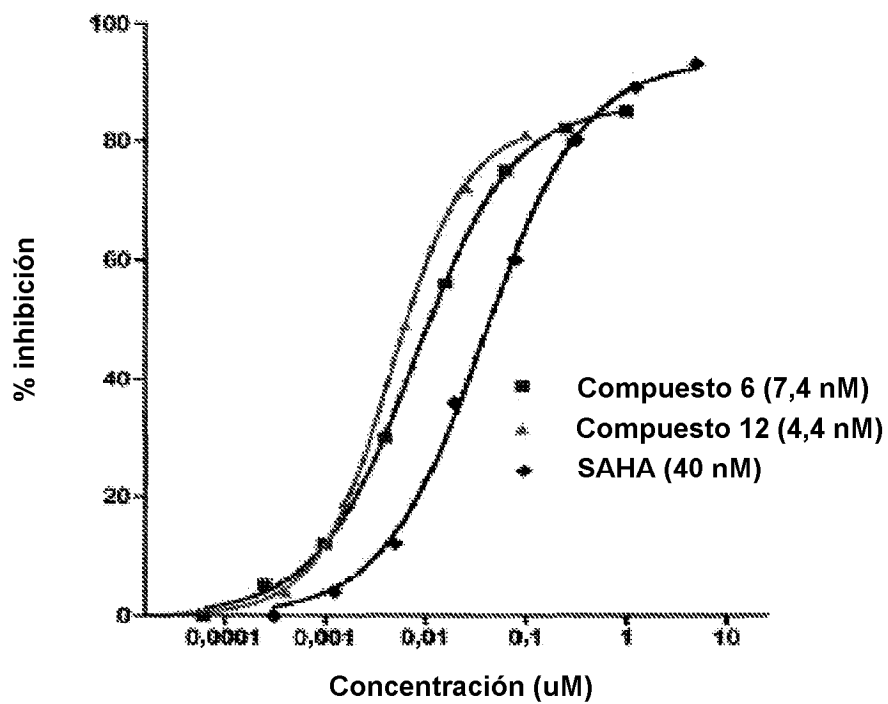
20 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde el compuesto se representa por la fórmula (III):



9. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 6 o 8, en donde B es un alqueno C<sub>5</sub> a C<sub>7</sub> de cadena lineal.
- 5 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en donde R<sub>1</sub> es hidrógeno y B es un alqueno C<sub>6</sub> de cadena lineal.
11. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el ácido tartárico es el ácido L-tartárico, o es ácido D, L-tartárico o es ácido meso-tartárico.
- 10 12. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la ciclodextrina es una α-ciclodextrina o un derivado de la misma, una β-ciclodextrina o un derivado de la misma, o una γ-ciclodextrina o un derivado de la misma.
13. La composición farmacéutica de la reivindicación 12, en donde la ciclodextrina es β-ciclodextrina o un derivado de la misma y se selecciona del grupo que consiste en una 2-hidroxiopropil-β-ciclodextrina y una β-ciclodextrina derivatizada con sulfobutilo, preferiblemente sulfobutiléter-(7)-β-ciclodextrina.
- 15 14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, en donde la ciclodextrina está presente en una concentración entre 0,5 y 40% (p/v).
15. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, en donde la ciclodextrina está presente en una concentración de aproximadamente 30% (p/v).
16. La composición farmacéutica de la reivindicación 12, formulada para administración intravenosa.
- 20 17. Composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para el uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican proliferación aberrante, diferenciación o supervivencia de células.
18. Composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para el uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo celular.
- 25 19. Composición farmacéutica de la reivindicación 18, en donde dicho trastorno proliferativo celular se selecciona del grupo que consiste en papiloma, blastoglioma, sarcoma de Kaposi, melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer ovárico, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, astrocitoma, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides, cáncer pancreático, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, leucemia, linfoma, enfermedad de Hodgkin y enfermedad de Burkitt.

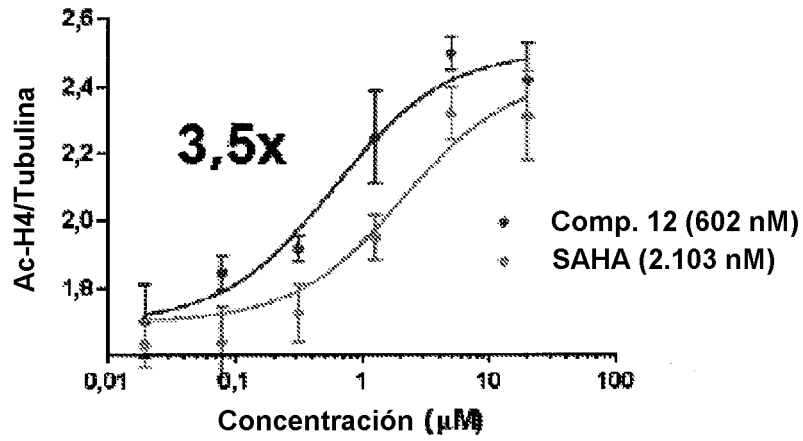


(a)

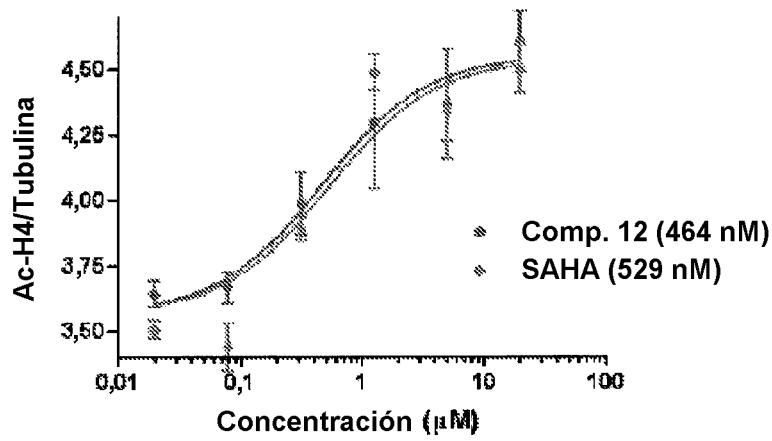


(b)

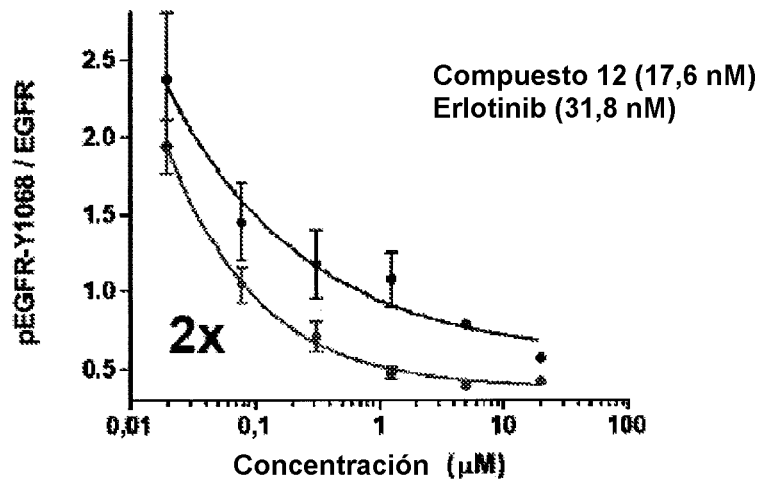
FIG. 1



(a)



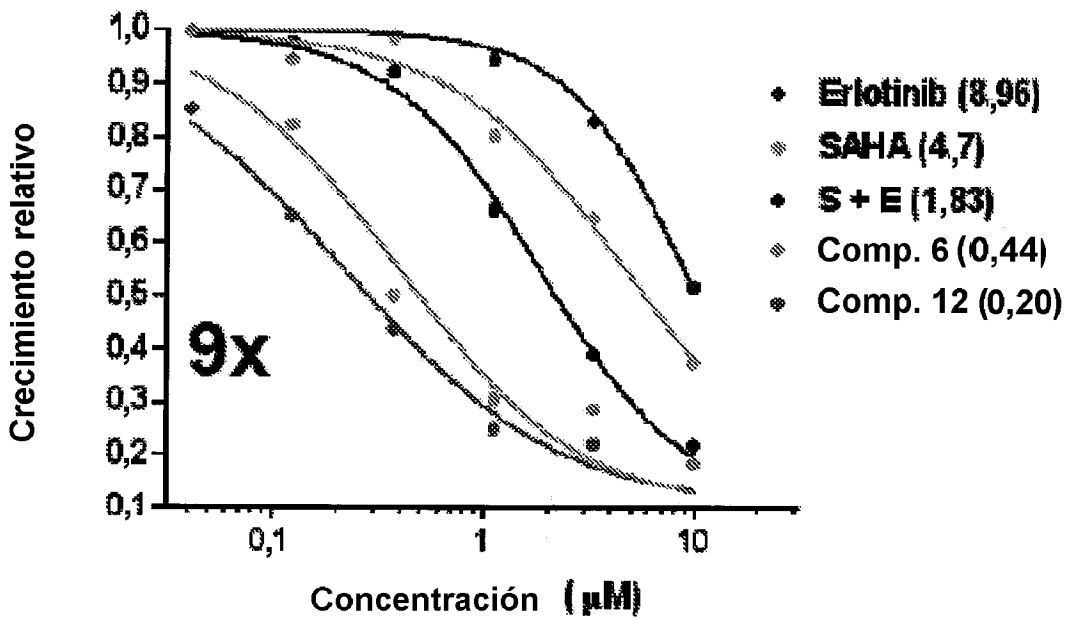
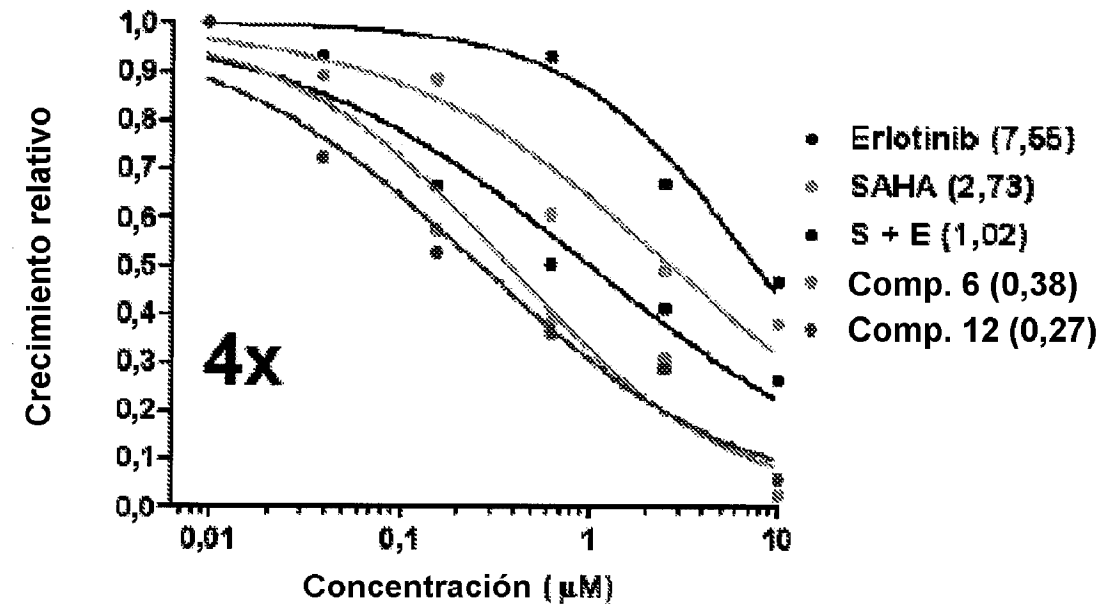
(b)



(c)

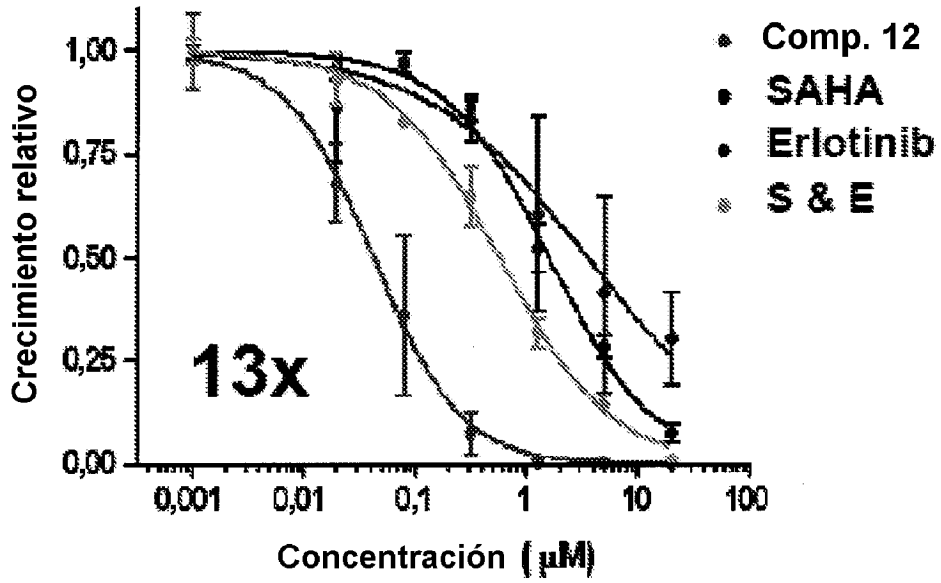
FIG. 2



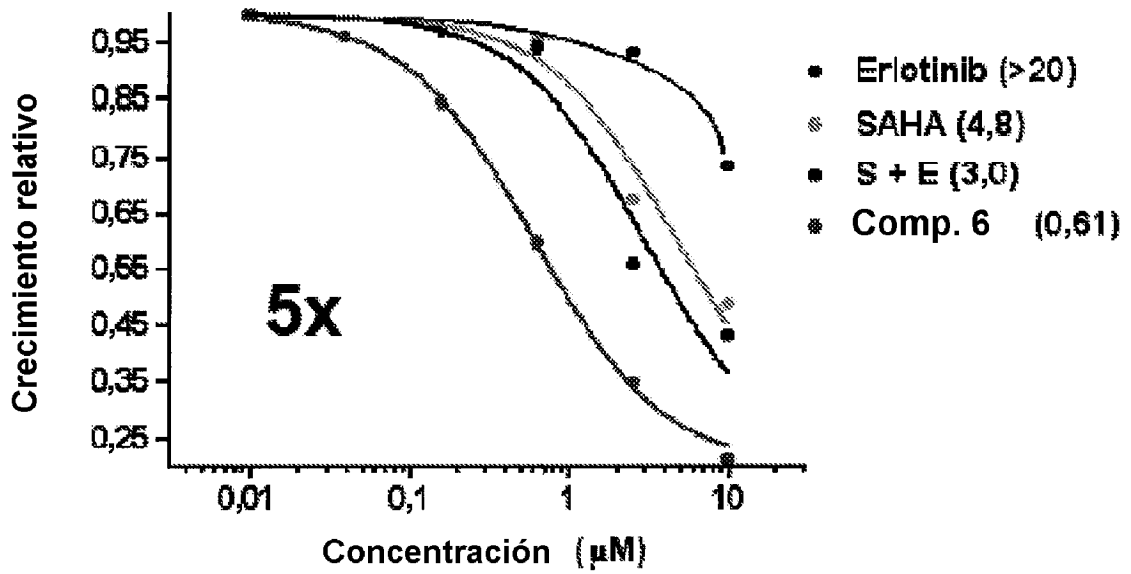


(b)

FIG. 3

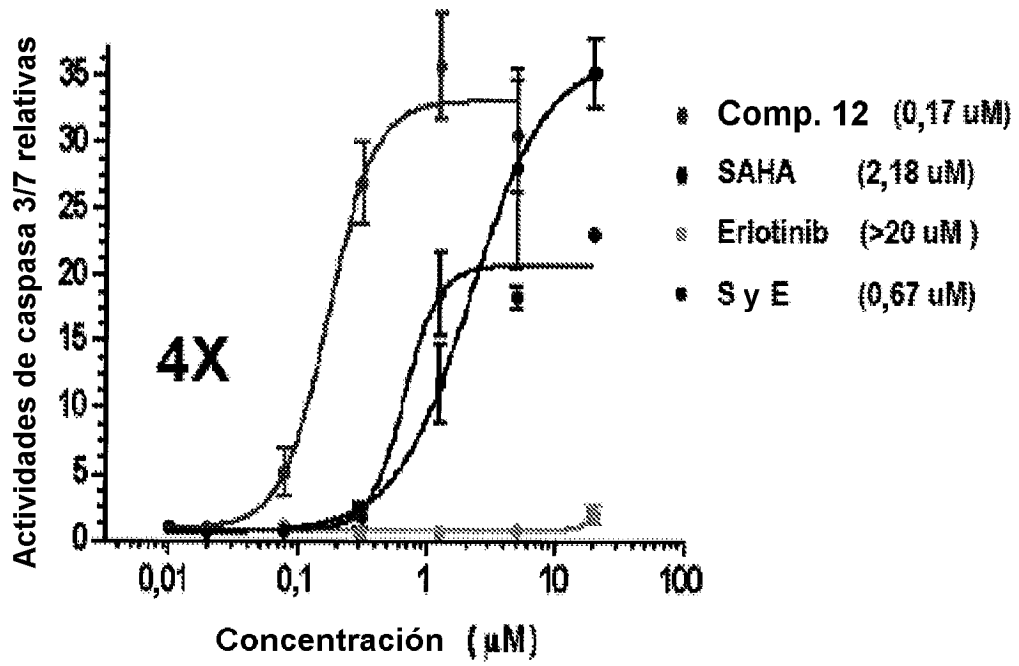


(c)

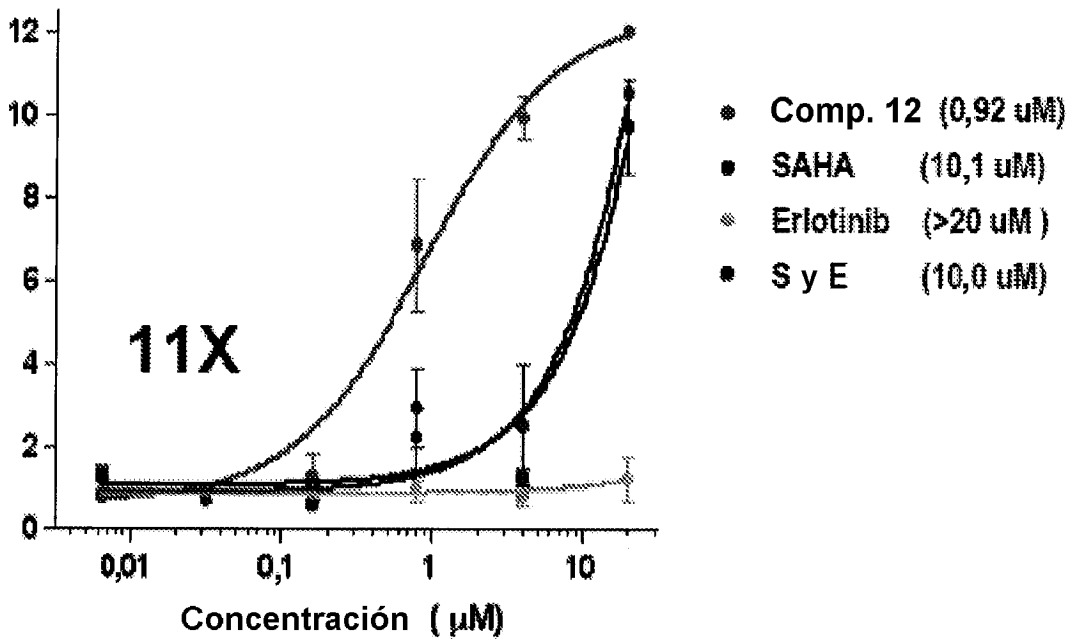


(d)

FIG. 3 cont.



(a)



(b)

FIG. 4

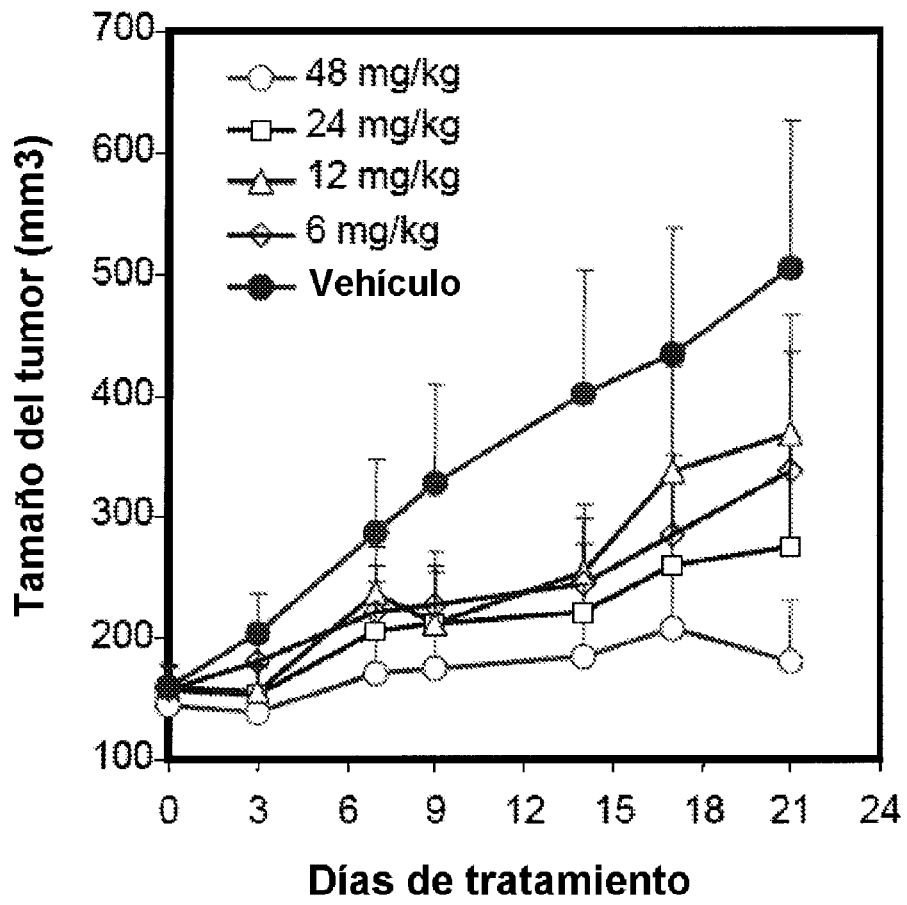


FIG. 5

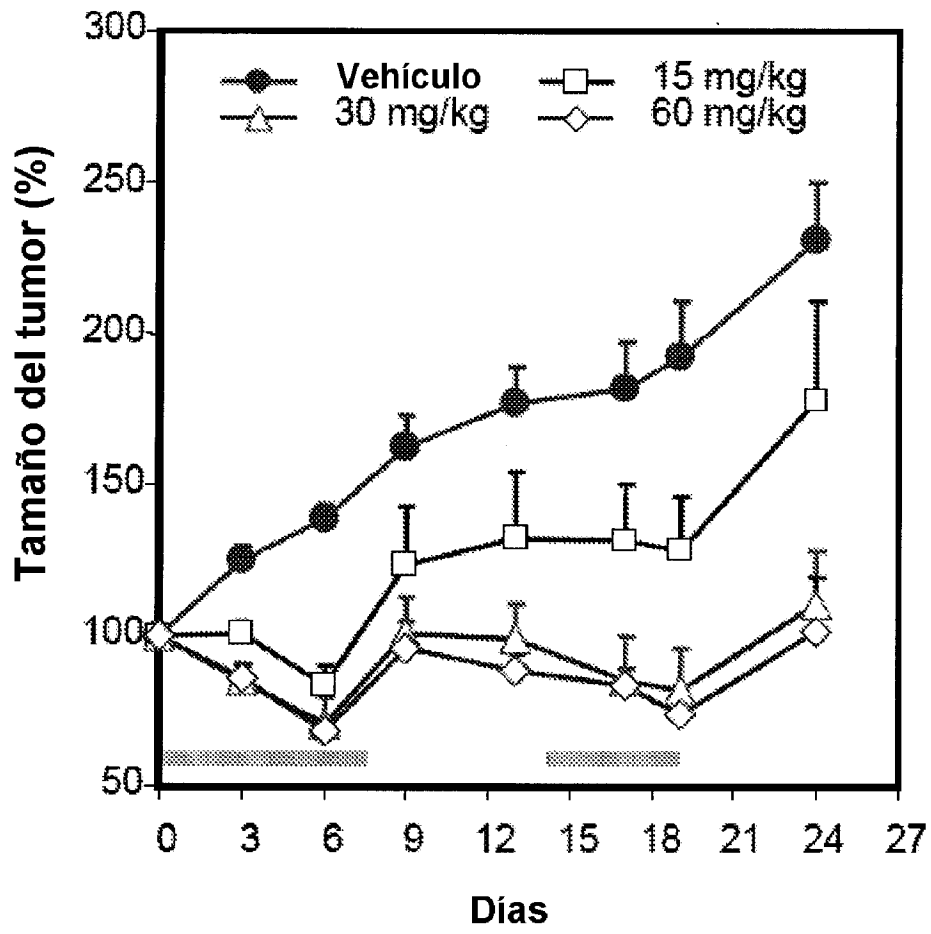


FIG. 6

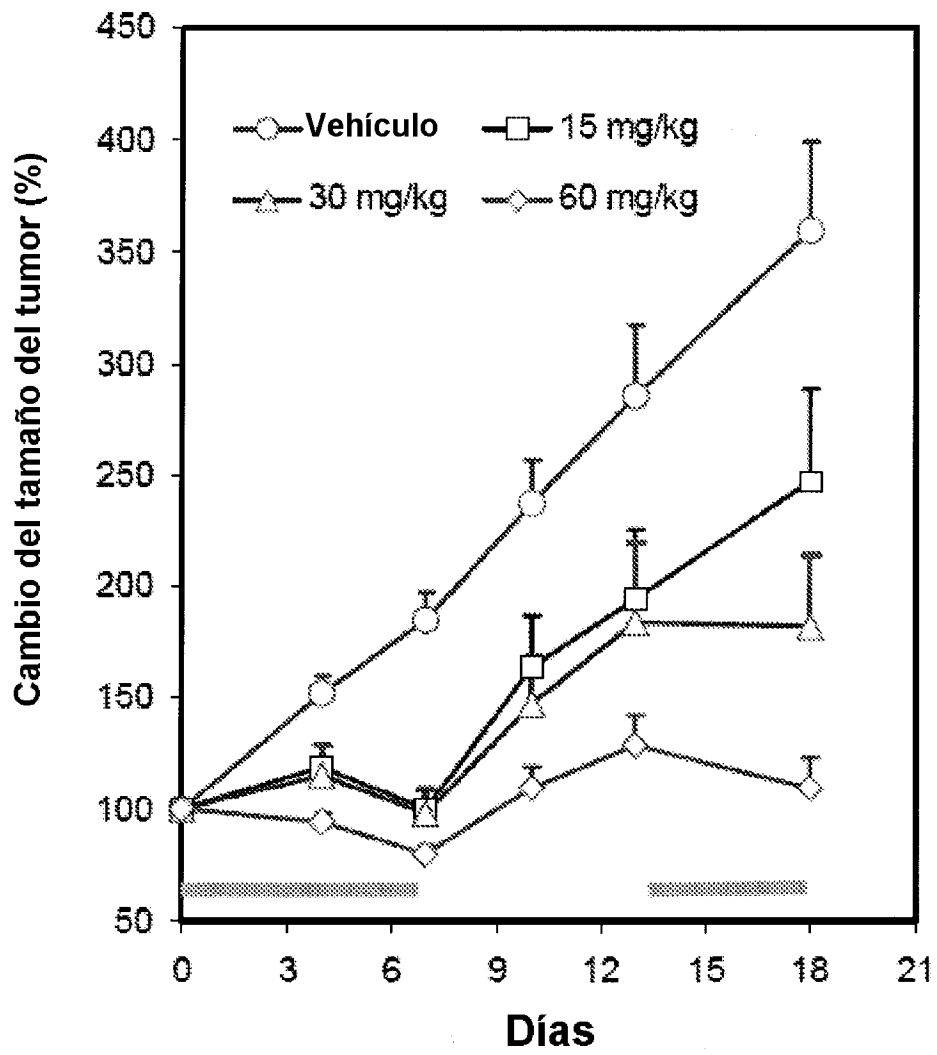


FIG. 7

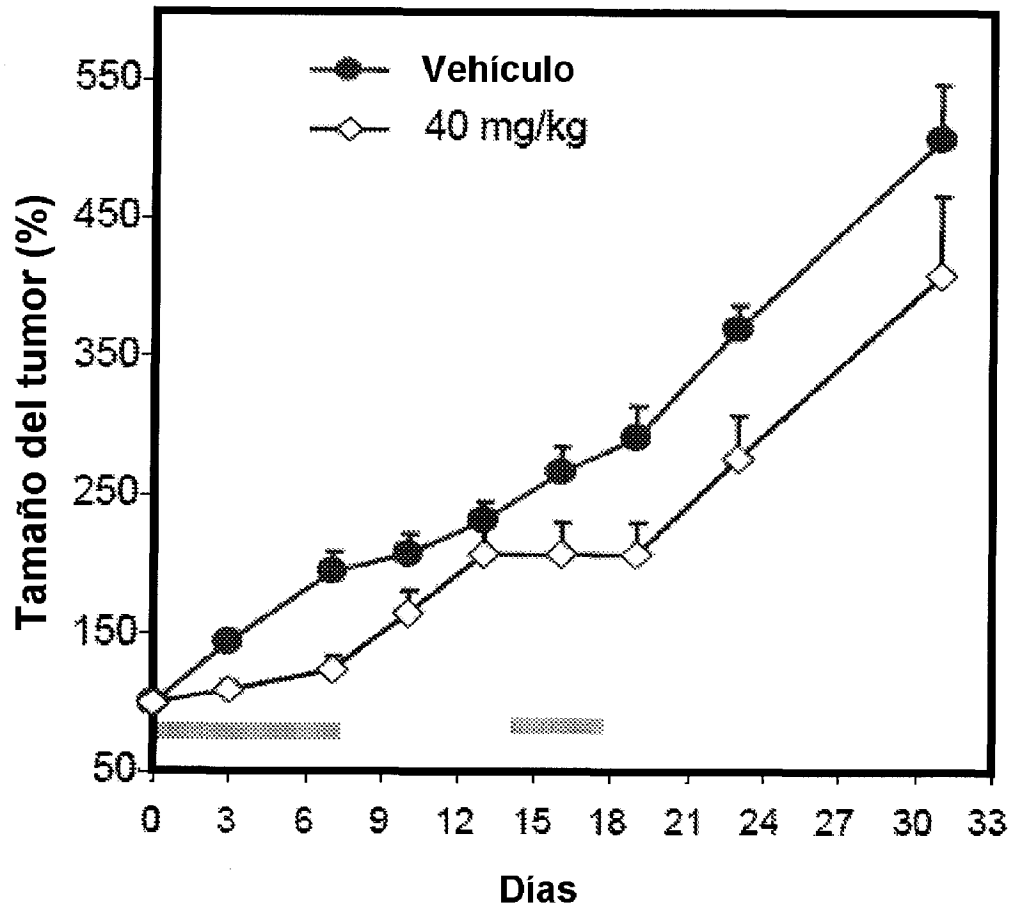


FIG. 8

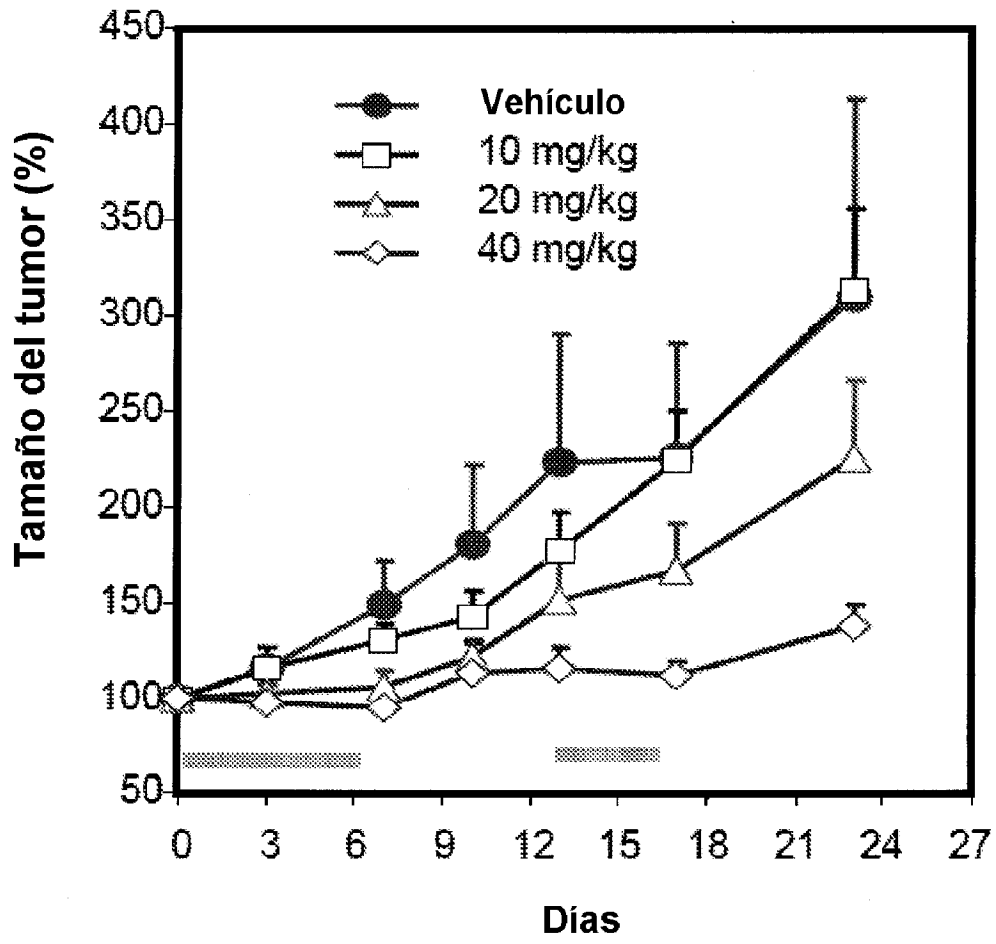


FIG. 9



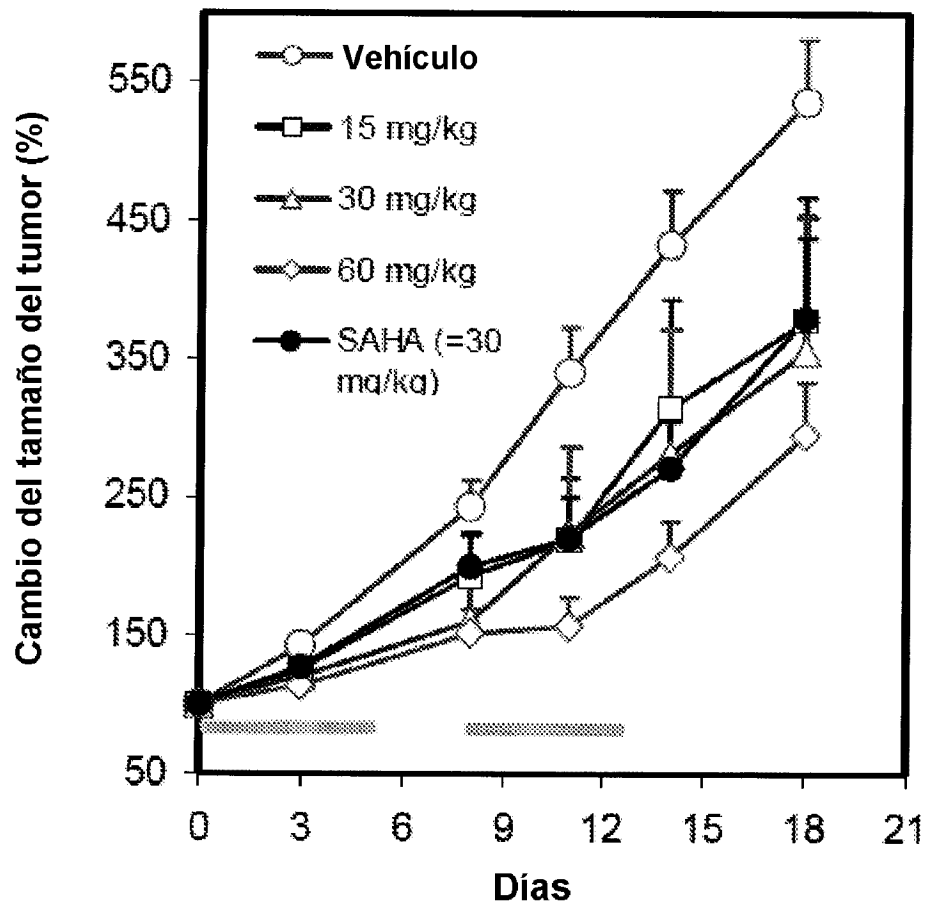


FIG. 10

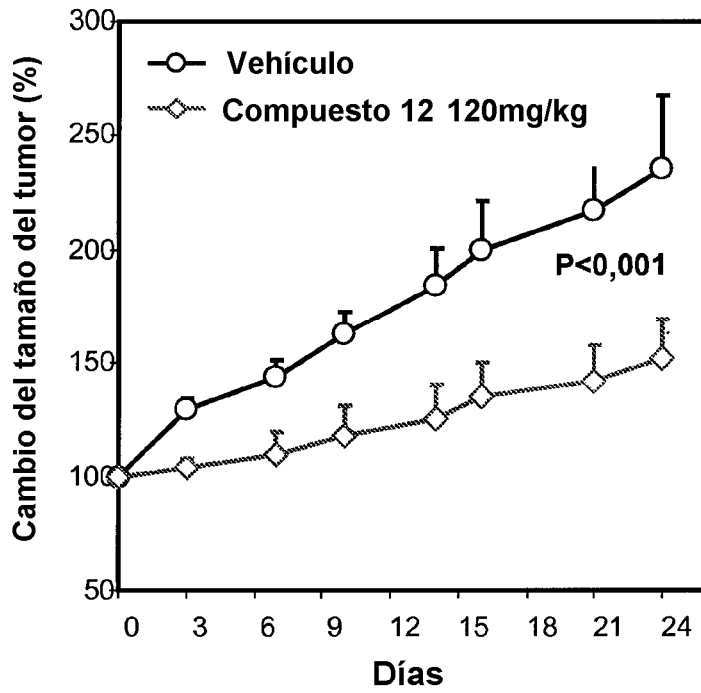


FIG. 11A

A549

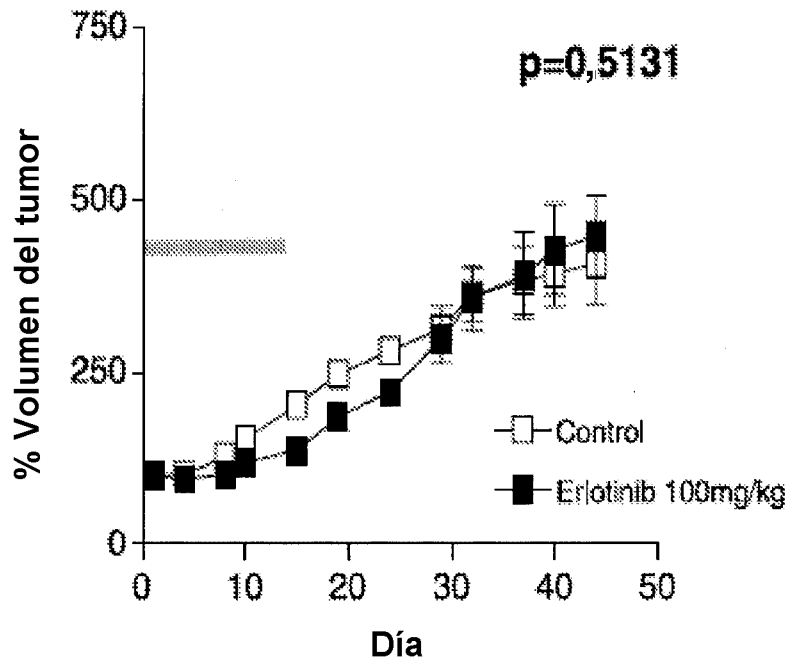


FIG. 11B

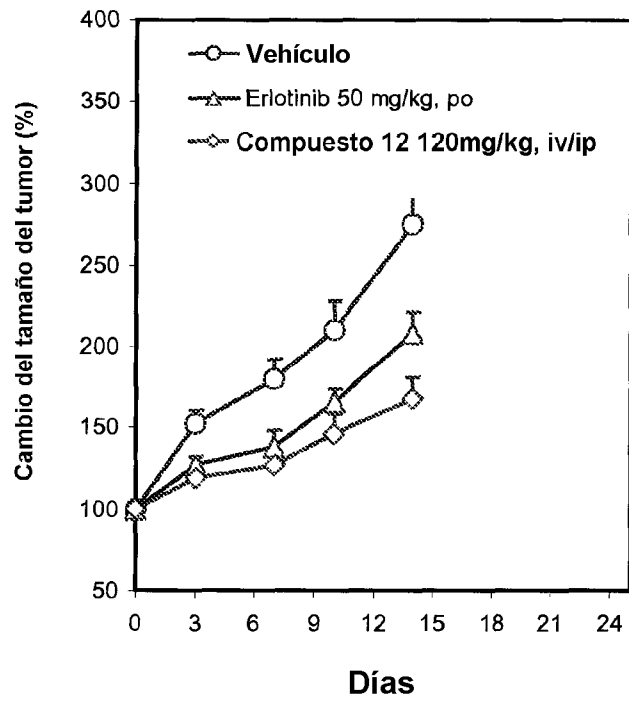


FIG. 12A

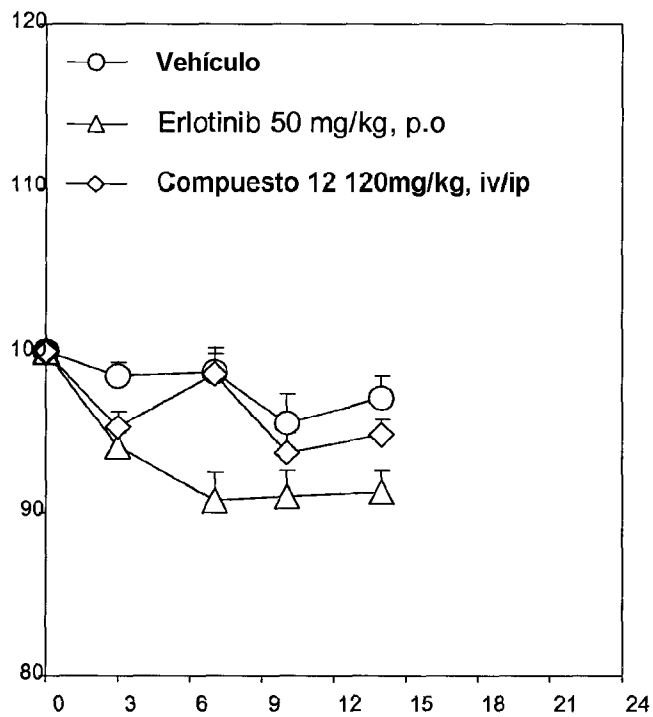


FIG. 12B

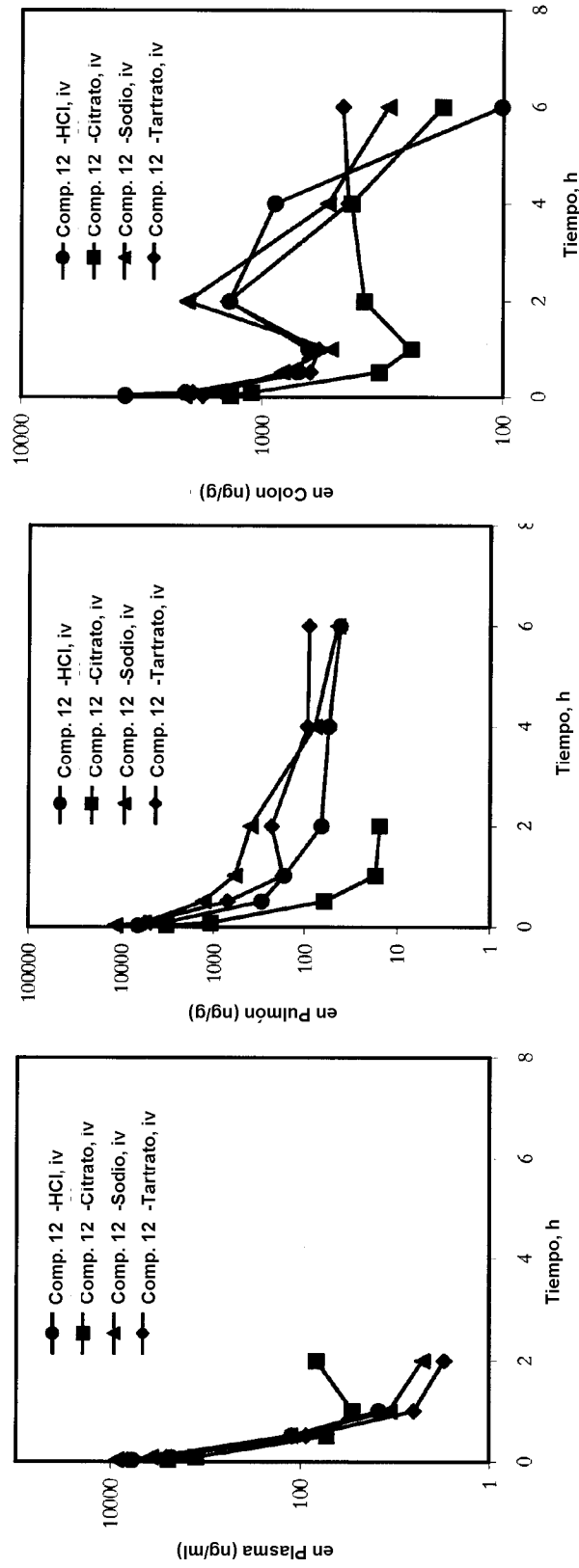


FIG. 13

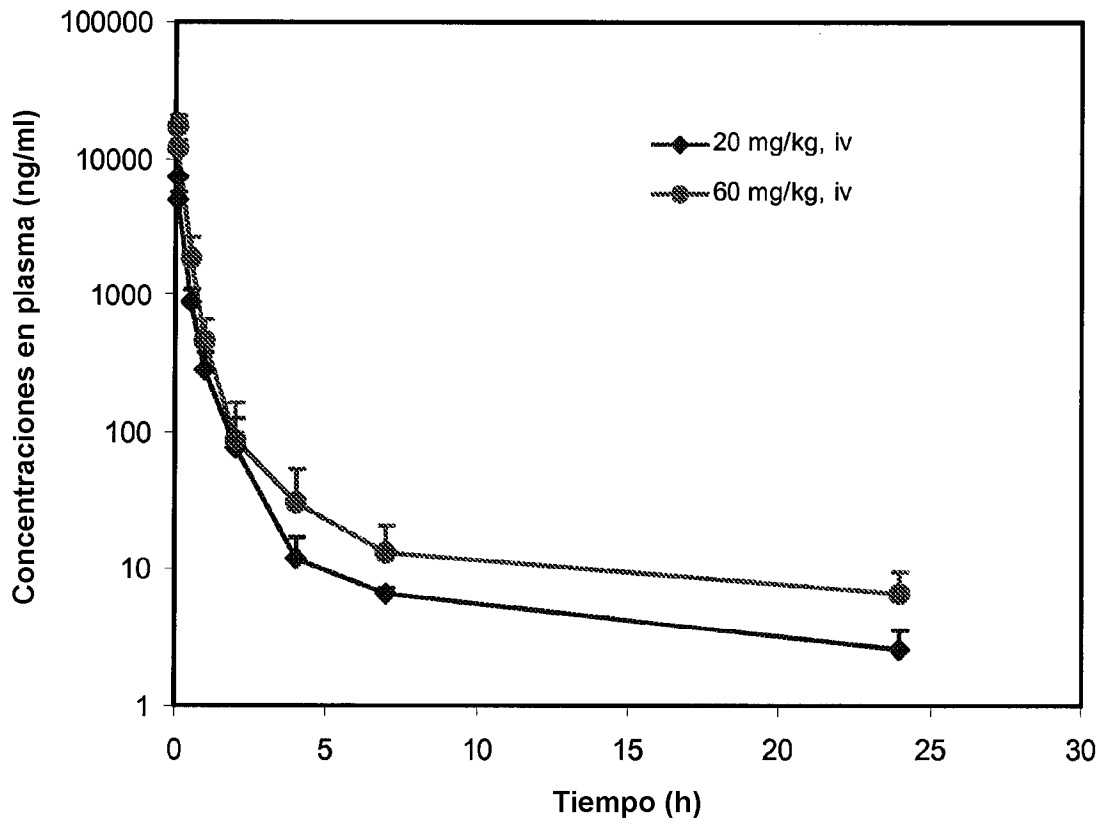


FIG. 14

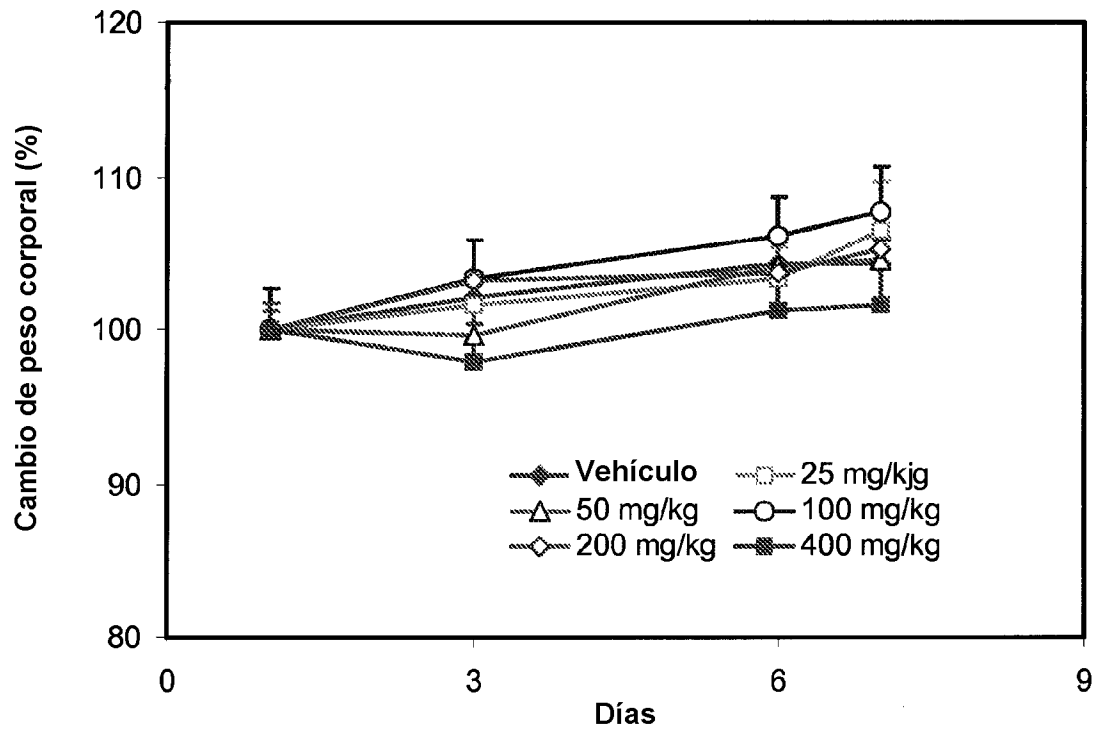


FIG. 15

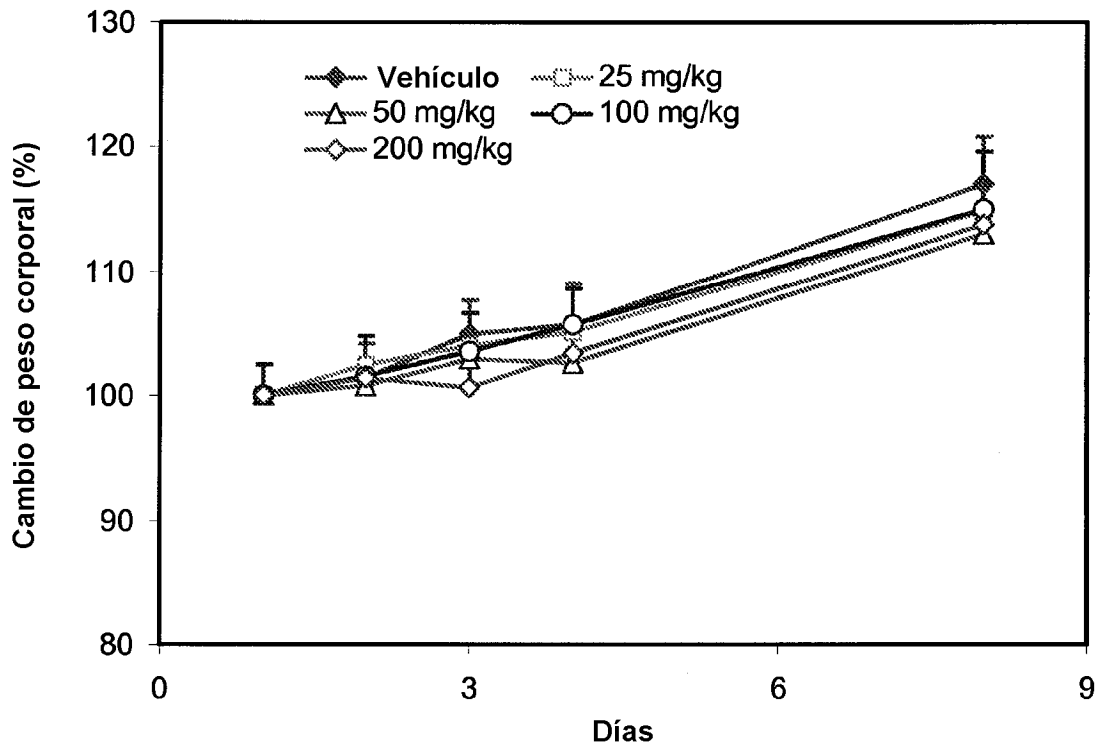


FIG. 16

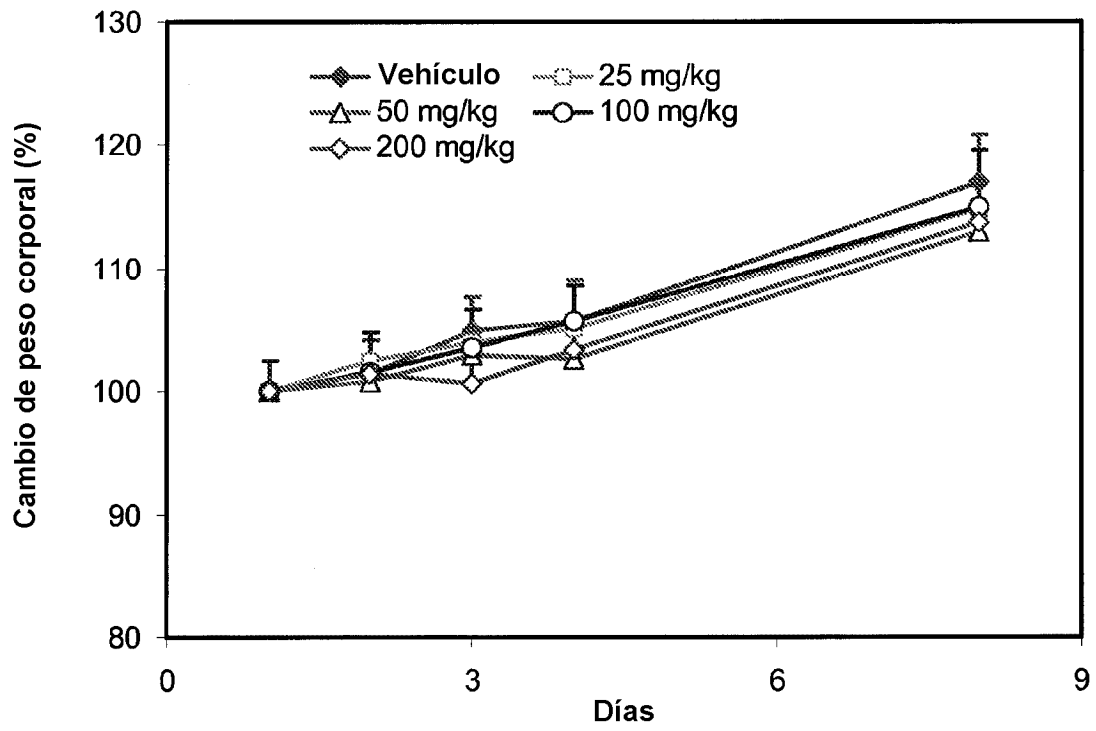


FIG. 17



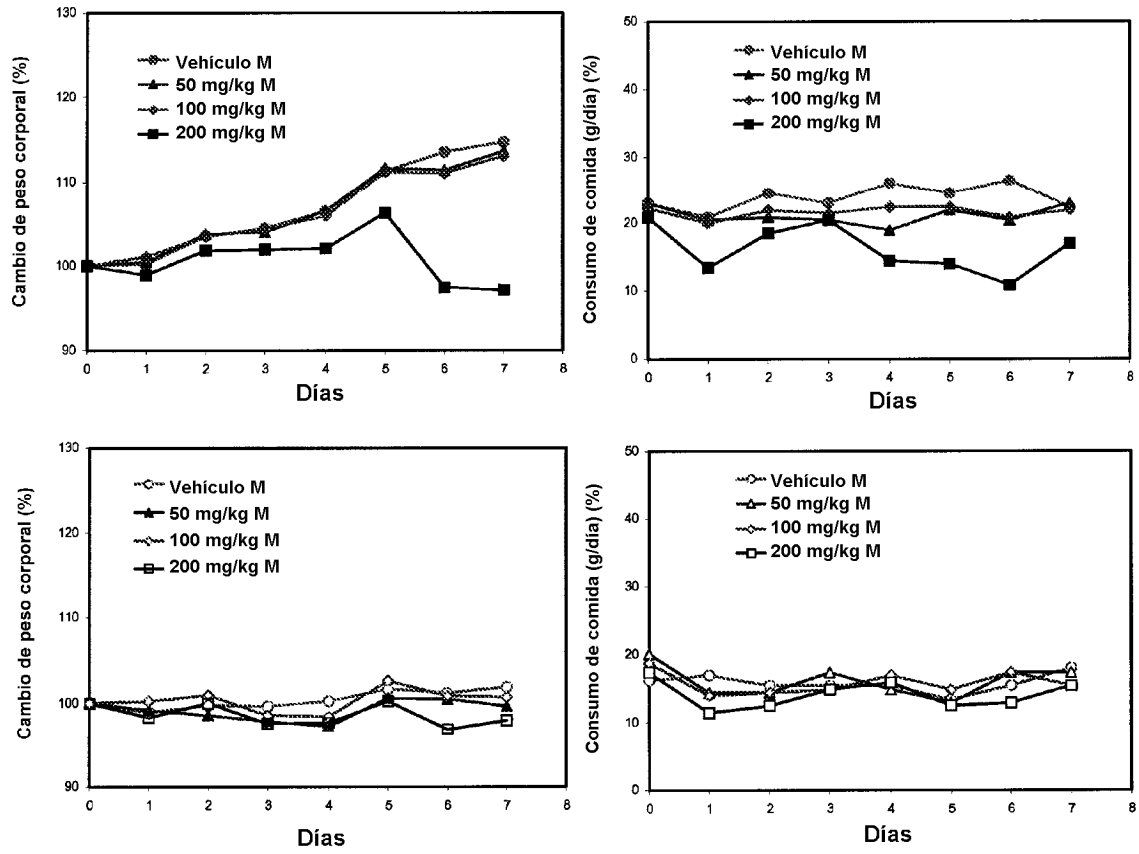
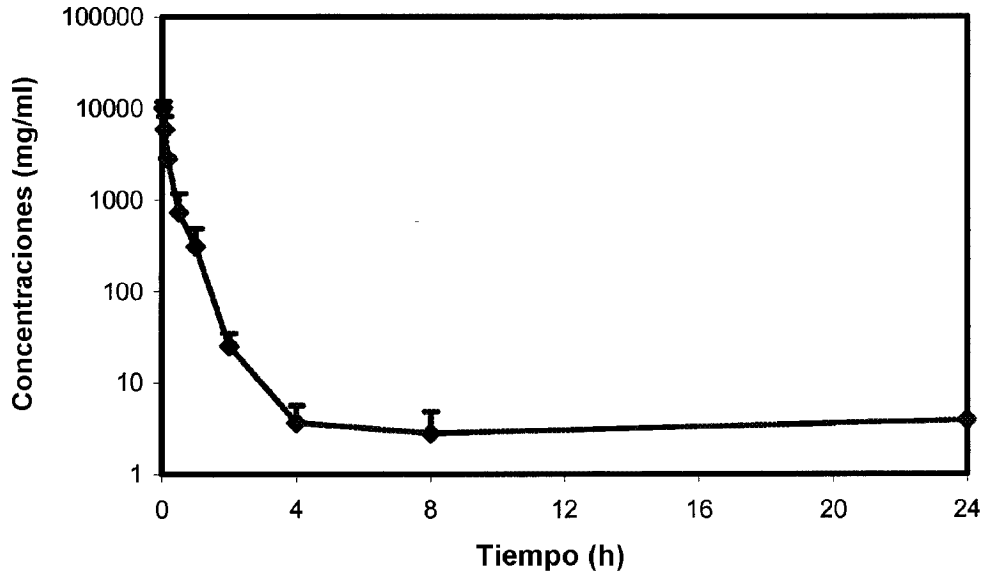


FIG. 18



		n°1	n°2	n°3	Media	DE
<b>K10</b>	1/hr	9,05	6,78	6,93	7,59	1,27
<b>K10 HL</b>	hr	0,08	0,10	0,10	0,09	0,01
<b>Alpha HL</b>	hr	0,03	0,07	0,05	0,05	0,02
<b>Beta HL</b>	hr	0,27	0,77	0,47	0,50	0,25
<b>Cmax</b>	ng/ml	15769,20	11199,46	18425,33	15131,33	3654,92
	μM	36,29	25,78	42,41	34,82	8,41
<b>AUC</b>	hr*ng/ml	1742,41	1651,94	2658,31	2017,55	556,75
	hr*μM	4,01	3,80	6,12	4,64	1,28
<b>CL</b>	L/hr/kg	14,35	15,13	9,40	12,96	3,11
<b>Vd</b>	L/kg	5,53	16,76	6,33	9,54	6,27
<b>AUMC</b>	hr*hr*ng/ml	457,53	667,55	1030,27	718,45	289,74
<b>MRT</b>	hr	0,26	0,40	0,39	0,35	0,08
<b>Vss</b>	L/kg	3,77	6,12	3,64	4,51	1,39

FIG. 19