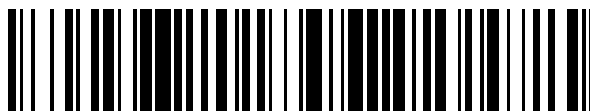


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 835**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/535** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**C07D 401/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2009 E 09829580 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2421537**

54 Título: **Pirazolilaminopiridinas como inhibidores de FAK**

30 Prioridad:

**15.09.2009 US 242432 P**

**15.05.2009 US 178517 P**

**27.10.2008 US 108568 P**

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

**06.07.2015**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)  
Corporation Service Company, 2711 Centreville  
Road, Suite 400  
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**ADAMS, JERRY, LEROY;  
FAITG, THOMAS, H.;  
JOHNSON, NEIL, W.;  
LIN, HONG;  
KASPAREC, JIRI;  
MELLINGER, MARK;  
XIE, REN y  
PENG, XIN**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 539 835 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**

Pirazolilaminopiridinas como inhibidores de FAK

**Campo de la invención**

5 Esta invención se refiere a una pirazolilaminopiridina que inhibe la quinasa de adhesión focal (FAK), así como composiciones de las mismas. Los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas incluyendo, pero sin limitación, cánceres.

**Antecedentes de la invención**

10 Las tirosina quinasa desempeñan un papel importante en la regulación de muchos procesos celulares, incluyendo proliferación celular, supervivencia celular y migración celular. Se sabe que ciertas tirosina quinasa se activan por mutación o se expresan de forma normal en muchos cánceres humanos. Por ejemplo, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se encuentra mutado y/o sobreexpresado en cánceres de mama, pulmón, cerebro, células escamosas, gástrico y otros cánceres humanos. Se ha demostrado que los inhibidores selectivos de la actividad tirosina quinasa de EGFR son de valor clínico en el tratamiento de cánceres con EGFR mutado y/o sobreexpresado. Por lo tanto, los inhibidores selectivos de tirosina quinasa particulares son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas tales como cánceres.

15 La FAK (codificada por el gen PTK2) es una tirosina quinasa no receptora que integra señales de integrinas y receptores de factores de crecimiento. Se ha descrito que la FAK desempeña un papel en la regulación de supervivencia, crecimiento, adhesión, migración e invasión celular (McLean et al 2005, Nat Rev Cancer 5: 505-515). Además, la FAK se regula y activa por fosforilación en múltiples restos de tirosina. La sobreexpresión de ARNm y/o proteína FAK se ha documentado en muchos tumores sólidos humanos incluyendo, pero sin limitación, cánceres de mama, colon, glándula tiroides, pulmón, ovario y próstata; pero también se incluyen cánceres de origen hematológico incluyendo, pero sin limitación, leucemia tal como leucemia mieloide aguda (AML). (Owens et al. 1995, Cancer Research 55: 2752-2755; Agochiya et al. 1999, Oncogene 18: 5646-5653; Gabarro-Niecko et al. 2003, Cancer Metastasis Rev. 22: 359-374; Recher et al. 2004, Cancer Research 64: 3191-3197, Zhao y Guan, 28:35-49, 2009, Cancer Metastasis Rev.). Más significativamente, existen pruebas de que la FAK fosforilada está aumentada en tejidos tumorales en comparación con tejidos normales (Grisaru-Granovsky et al. 2005, int. J. Cancer 113: 372-378) y podría representar un marcador de pronóstico de metástasis. La actividad de la FAK está claramente implicada en el cáncer humano avanzado y metastásico (Zhao y Guan, 28: 35-49, 2009, Cancer Metastasis Rev.).

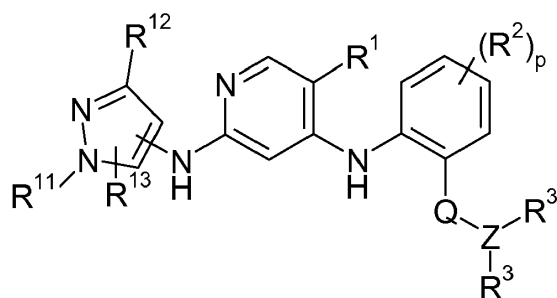
20 Se ha demostrado que la eliminación de la FAK por ARNi o la expresión de una FAK dominante negativa induce una pérdida de adhesión y muerte celular en líneas celulares de mama y melanoma humanas, y aumenta la apoptosis mediada por docetaxel en células de cáncer de ovario (Beviglia et al 2003, Biochem J. 373: 201-210, Smith et al 2005, Melanoma Res. 15: 357-362, Halder et al 2005, Clin. Cancer Res. 11: 8829-8836). Sin embargo, se descubrió que la inhibición de la FAK en fibroblastos humanos normales o en células mamarias inmortalizadas (MCF10A) no causaba pérdida de unión o apoptosis (Xu et al. 1996 Cell Growth and Diff 7: 413-418). También se ha demostrado que la inhibición de la FAK por expresión dominante negativa reduce el desarrollo tumoral y elimina la metástasis pulmonar de células de adenocarcinoma mamario en un modelo singénico de rata (van Nimwegen et al 2005, Cancer Res. 65: 4698-4706). De forma similar, la inhibición de la FAK por ARNsh inhibía la metástasis pulmonar y reducía la letalidad en 40% en un modelo singénico de ratón (Mitra et al 2006, Oncogene 25: 4429-4440). En este estudio, la re-expresión transitoria de tipo silvestre, pero no de FAK sin actividad quinasa, revertía los fenotipos ARNsh. La inhibición de la FAK por expresión dominante negativa en células de carcinoma 4T1 de ratón reducía el desarrollo tumoral y la angiogénesis en ratones (Mitra et al 2006, Oncogene 25: 5969-5984). Además, la pérdida de actividad catalítica de FAK (reconstitución de células FAK -/- con FAK sin actividad quinasa) reducía el desarrollo de tumores v-*Src* en ratones y disminuía la angiogénesis.

25 Por lo tanto, existen pruebas firmes que sugieren que la inhibición de la actividad de la FAK induce apoptosis, pérdida de adhesión, inhibición del desarrollo y de la migración celular, y que dicha inhibición reduce la angiogénesis. Por consiguiente, los compuestos que inhiben la actividad de la FAK serían útiles para el tratamiento de cánceres.

30 WO 2008/115369 se refiere a derivados de compuestos de 2,4-diaminopiridina 5-sustituidos como inhibidores de la quinasa de adhesión focal y describe además métodos de uso de estos compuestos en el tratamiento de cáncer así como métodos de preparación de estos compuestos usando reacciones de acoplamiento.

**Compendio de la invención**

35 Se describen compuestos de fórmula (I):



(I)

o una sal de los mismos, donde:

$R^1$  es halo,  $CF_3$ , alquilo  $C_1-C_6$ , isopropenilo, (alquileno  $C_2-C_6$ )-cicloalquilo  $C_3-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$  o ciano;

5 en  $R^2$ , cuando  $p$  es distinto de 0, cada  $R^2$  es independientemente F, Cl,  $CF_3$ , metilo, metoxi,  $CH_2CF_3$ ,  $-(X)_q$ -alquileno  $C_1-C_4-R^4$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_4$ - $NR^5-C(O)-R^6$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_4$ - $(NR^5)_q-SO_x-R^7$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_4$ - $Y-N(R^8)_2$ ; un grupo heterocicloalquil de 5 a 6 miembros- $(R^9)_q$  o un grupo heteroaril de 5 a 6 miembros- $(R^{10})_r$ ;

$R^3$  es independientemente H, cicloalquilo  $C_3-C_6$ , alquilo  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$ , alquileno  $C_1-C_6-R^4$ , O-alquileno  $C_1-C_6-R^4$ , o, los grupos  $R^3$ , junto con Z, forman un anillo cíclico de 5 a 6 miembros opcionalmente sustituido con metilo, alquileno  $C_1-C_4-R^4$  o cicloalquilo  $C_3-C_6$ ;

10  $R^4$  es H,  $-(Q)_q-N(R^8)_2$ , OH, SH, alcoxi  $C_1-C_6$ , tioalquilo  $C_1-C_6$  o un grupo heterocicloalquil de 5 a 6 miembros- $(R^9)_q$ ;

$R^5$  es H o alquilo  $C_1-C_6$ ;

$R^6$  es H, alquilo  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$ ,  $N(R^8)_2$  o un grupo heteroaril de 5 a 6 miembros- $(R^{10})_r$ ;

$R^7$  es alquilo  $C_1-C_6$ , fenil- $(R^9)_q$  o heteroaril de 5 a 6 miembros- $(R^{10})_r$ ;

15  $R^8$  es independientemente H, alquilo  $C_1-C_6$ , -O-alquilo  $C_1-C_6$  o, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un grupo heterocicloalquil de 5 ó 6 miembros;

$R^9$  es H, alquilo  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$ ,  $-(Q)_q-N(R^8)_2$ , -Q-alquilo  $C_1-C_6$ , -alquil  $C_1-C_6-R^4$  o heterocicloalquilo de 5 a 6 miembros;

$R^{10}$  es H, alquilo  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$  o -Q-alquilo  $C_2-C_6$ ;

20  $R^{11}$  es alquilo  $C_1-C_6$ ,  $CF_3$ ,  $-CH_2CF_3$ ,  $-(Q)_q$ -alquileno  $C_1-C_4-R^4$ , -Q- $N(R^8)_2$ , fenil- $(R^5)_s$ , un grupo heterocicloalquil de 5 a 6 miembros- $(R^9)_q$  o un grupo heteroaril de 5 a 6 miembros- $(R^{10})_r$ ;

$R^{12}$  es H, alquilo  $C_1-C_6$ , F, Cl,  $CF_3$ , OH, CN, nitro, COOH, -COO-alquilo  $C_1-C_6$ , -Y- $N(R^8)_2$ , cicloalquil  $C_3-C_6-R^{14}$ ,  $-(X)_q$ -alquileno  $C_1-C_6-R^4$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_6$ - $NR^5-C(O)-R^6$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_6$ - $(NR^5)_q-SO_x-R^7$ ,  $-(X)$ -alquileno  $C_1-C_6$ - $Y-N(R^8)_2$ , heterocicloalquil- $(R^9)_q$ , heteroaril- $(R^{10})_r$  o fenil- $(R^{15})_s$ ;

25  $R^{13}$  es H, F, Cl, alquilo  $C_1-C_6$  o cicloalquilo  $C_3-C_6$ ; o  $R^{12}$  y  $R^{13}$ , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un grupo carbocicloalquilo o heterocicloalquilo condensado de 5 ó 6 miembros;

$R^{14}$  es independientemente H, alquilo  $C_1-C_6$ ,  $-NR^5-SO_2-R^7$ , -Y- $N(R^8)_2$  o  $-(X)_q$ -alquileno  $C_1-C_6-R^4$ ;

$R^{15}$  es independientemente F, Cl,  $CF_3$ , alquilo  $C_1-C_3$  o alcoxi  $C_1-C_3$ ;

$p$  es 0, 1, 2 ó 3;

$q$  es 0 ó 1;

30  $r$  es 0, 1 ó 2;

$s$  es 0, 1, 2 ó 3;

$x$  es 1 ó 2;

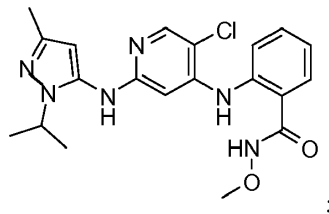
Q es -C(O)-, -S(O)- o -SO<sub>2</sub>-;

X es  $NR^5$ , O, S, -S(O)- o -SO<sub>2</sub>-;

35 Y es un enlace, SO<sub>2</sub> o C(O); y

Z es N o CR<sup>5</sup>.

La presente invención se refiere a 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida, que es un compuesto de fórmula



5 o una sal del mismo.

En una realización más, la presente invención se refiere a una composición que comprende 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En una realización más, la presente invención se refiere a 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en tratamiento de cáncer.

### Descripción detallada de la invención

Como se usa en la presente memoria, "halo" se refiere a flúor, cloro o bromo.

15 "Alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado incluyendo metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *t*-butilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo.

"Alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a grupos alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-O-, incluyendo grupos metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *iso*-propoxi y *n*-butoxi.

20 El término "alquileo" (por ejemplo, alquileo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> o alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) se refiere a un radical hidrocarburo lineal o ramificado que tiene el número especificado de átomos de carbono. El grupo "-alquileo-R<sup>4</sup>" se refiere a un grupo alquilo sustituido o sin sustituir que tiene el número especificado de átomos de carbono; por lo tanto, cuando R<sup>4</sup> es H, "alquileo" es sinónimo de "alquilo"; por el contrario, alquileo es un radical bivalente. Los ejemplos de -(X)<sub>q</sub>-alquileo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-R<sup>4</sup> incluyen -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-OH, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-OCH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-piperidinilo; -O-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-OCH<sub>3</sub>; y similares.

Cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> se refiere a un grupo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

25 Como se usa en la presente memoria, "heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros" se refiere a un grupo cicloalifático de 5 ó 6 miembros que incluye un heteroátomo de O, N o S o una combinación de los mismos. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo adecuados incluyen grupos pirrolidinilo, pirrolidinonilo, piperidinilo, piperazinilo, oxopiperazinilo, morfolino y tiomorfolino.

30 Los grupos R<sup>8</sup> pueden formar, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, un anillo cíclico de 5 a 6 miembros, cuyos ejemplos incluyen grupos pirrolidinilo, pirrolidinonilo, piperidinilo, piperazinilo, oxopiperazinilo, morfolino y tiomorfolino.

El término "heteroarilo" se refiere a un grupo aromático de 5 ó 6 miembros que contiene al menos un átomo de N, O o S. Los ejemplos de grupos heteroarilo adecuados incluyen piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, pirrolilo, furilo, tienilo, pirazolilo, imidazolilo, furazanilo, oxazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, tetrazolilo e isotiazolilo.

35 Como se usa en la presente memoria, "farmacéuticamente aceptable" se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y formas de dosificación que, dentro del alcance del juicio médico, son adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin producir una toxicidad e irritación excesivas u otro problema o complicación.

40 El especialista apreciará que pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I). Más particularmente, puesto que los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) contienen un grupo funcional básico - y pueden incluir un grupo funcional ácido - pueden formar sales farmacéuticamente aceptables por tratamiento con un ácido o base adecuada. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ácidos farmacéuticamente aceptables representativos incluyen cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido sulfónico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido hidroxiaacético, ácido fenilacético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido maleico, ácido acrílico, ácido fumárico, ácido málico, ácido malónico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido tánico,

ácido fórmico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido oleico y ácido láurico.

Las bases adecuadas incluyen bases inorgánicas, tales como hidruros, hidróxidos y carbonatos de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y cinc, así como bases orgánicas tales como arginina, colina, dietilentriamina, dimetilamina, etilendiamina, imidazol, lisina, morfina, prolina y trimetilamina.

5 Como se usa en la presente memoria, la expresión "un compuesto de fórmula (I)" o "el compuesto de fórmula (I)" se refiere a uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede existir en una forma cristalina o no cristalina, o en forma de una mezcla de las mismas. El especialista apreciará que pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables para compuestos cristalinos en los que las moléculas de disolventes se incorporan en la estructura cristalina durante la cristalización. Las moléculas de disolventes incorporadas pueden ser moléculas de agua o moléculas no acuosas tales como moléculas de etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina y acetato de etilo. Las estructuras cristalina incorporadas con moléculas de agua se denominan típicamente "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La presente invención incluye todos estos solvatos.

15 Algunos de los compuestos descritos en la presente memoria pueden contener uno o más átomos quirales, o por el contrario pueden ser capaces de existir en forma de dos enantiómeros. Los compuestos descritos más adelante incluyen mezclas de enantiómeros así como enantiómeros purificados o mezclas enantioméricamente enriquecidas. También se proporcionan los isómeros individuales de los compuestos representados por la fórmula (I) así como cualquier mezcla total o parcialmente equilibrada de los mismos. También se proporcionan los isómeros individuales de los compuestos descritos como mezclas con isómeros de los mismos en las que uno o más centros quirales están invertidos.

20 Cuando hay diferentes formas isoméricas, pueden separarse o resolverse unas de otras por métodos convencionales, o cualquier isómero dado puede obtenerse por métodos sintéticos convencionales o por síntesis estereoespecífica o asimétrica.

25 Aunque es posible que, para el uso en terapia, un compuesto de fórmula (I), así como sus sales farmacéuticamente aceptables, o sus solvatos, puedan administrarse en forma de una preparación neta, es decir, sin ningún vehículo adicional, la práctica más habitual es presentar el ingrediente activo preparado con un vehículo o diluyente. Por consiguiente, la invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica, que incluye 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-*N*-(metiloxi)benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable, o uno de sus solvatos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-*N*-(metiloxi)benzamida y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables como se ha descrito aquí anteriormente. El excipiente debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor del mismo. También se proporciona un proceso para la preparación de una formulación farmacéutica que incluye mezclar 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-*N*-(metiloxi)benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato del mismo, con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 Se apreciará por los especialistas en la técnica que algunos derivados protegidos de compuestos de fórmula (I), que pueden prepararse antes de una etapa de desprotección final, pueden no poseer actividad farmacológica por sí mismos, pero, en ciertas circunstancias, pueden administrarse por vía oral o parenteral y después de ello metabolizarse en el cuerpo para formar compuestos de la invención que son farmacológicamente activos. Por lo tanto, dichos derivados pueden describirse como "profármacos".. Se apreciará además por los especialistas en la técnica que algunos restos, conocidos por los especialistas en la técnica como "pro-restos", pueden situarse sobre funcionalidades apropiadas cuando dichas funcionalidades están presentes dentro de los compuestos de la invención. Los profármacos preferidos para los compuestos de la invención incluyen: ésteres, ésteres carbonato, hemi-ésteres, ésteres fosfato, nitro ésteres, ésteres sulfato, sulfóxidos, amidas, carbamatos, compuestos azo, fosfamidas, glicósidos, éteres, acetales y cetales.

40 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Dicha unidad puede contener, por ejemplo, de 0,5 mg a 3500 mg, preferiblemente de 1 mg a 700 mg, más preferiblemente de 5 mg a 100 mg de un compuesto de la fórmula (I), dependiendo de la afección que se trate, la vía de administración y la edad, peso y estado del paciente, o las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, como se ha mencionado anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Además, dichas composiciones farmacéuticas pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

55 Las composiciones farmacéuticas pueden destinarse a administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones pueden prepararse por cualquier método conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo, asociando un compuesto de fórmula (I) con el vehículo o vehículos o excipiente o excipientes.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración oral pueden presentarse como unidades separadas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

- 5 Las cápsulas se obtienen preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito anteriormente, y rellenando las cubiertas de gelatina formadas. Pueden añadirse deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de relleno. También puede añadirse un disgregante o agente solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.
- 10 Además, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse en la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, por preparación de una mezcla en polvo, granulación o precompresión, adición de un lubricante y disgregante y prensado en comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo por mezcla del compuesto, convenientemente triturado con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente y, opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de la disolución tal como parafina, un acelerador de la reabsorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse mediante troqueles de formación de comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime después en comprimidos. Los compuestos de la presente invención también pueden combinarse con un vehículo inerte fluido y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o precompresión. Puede proporcionarse un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un recubrimiento sellante de goma laca, un recubrimiento de azúcar o un material polimérico y un recubrimiento de brillo de cera. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para distinguir dosificaciones unitarias diferentes.
- 20 Pueden prepararse fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires en forma de dosificación unitaria de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula (I). Pueden prepararse jarabes disolviendo el compuesto en una solución acuosa convenientemente saborizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Pueden formularse suspensiones por dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilen sorbitol, conservantes, aditivos saporíferos tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.
- 25
- 30
- 35

Cuando sea apropiado, las composiciones farmacéuticas de dosificación unitaria para administración oral pueden microencapsularse. La formulación también puede prepararse para prolongar o sostener la liberación, como por ejemplo, por recubrimiento o embebimiento del material particulado en polímeros, ceras o similares.

- 40 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la composición sea isotónica con la sangre del destinatario deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que puede incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en envases de dosis unitarias o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que sólo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones para inyección extemporánea a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.
- 45

- Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de varios factores que incluyen, por ejemplo, la edad y peso del destinatario deseado, la afección exacta que requiere el tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y en última instancia dependerá del criterio del médico que prescriba la medicación. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de un cáncer estará generalmente en el intervalo de 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal del destinatario por día, convenientemente en el intervalo de 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal por día. Para un adulto de 70 kg, la cantidad real por día sería convenientemente de 7 a 700 mg y esta cantidad puede administrarse en una sola dosis al día o en varias (tales como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis al día de modo que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal o solvato, por ejemplo, puede determinarse como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) *per se*. Se prevé que serían apropiadas dosificaciones similares para el tratamiento de las otras afecciones a las que se ha hecho referencia anteriormente.
- 50
- 55

## Tratamientos

Los compuestos y composiciones de la invención se usan para tratar enfermedades de proliferación celular. Las patologías que pueden tratarse por los métodos y composiciones que se proporcionan en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, cáncer, enfermedad autoinmune, trastornos fúngicos, artritis, rechazo de injertos, enfermedad inflamatoria del intestino, proliferación inducida después de procedimientos médicos incluyendo, pero sin limitación, cirugía, angioplastia y similares. Se aprecia que, en algunos casos, las células pueden no estar en un estado de hiper- o hipoproliferación (estado anormal) y aún así requerir tratamiento. Por ejemplo, durante la curación de heridas, las células pueden estar proliferando "Normalmente", pero puede desearse un aumento de la proliferación. Por lo tanto, una realización incluye la aplicación a células o individuos aquejados o que se verán aquejados de forma inminente con uno cualquiera de estos trastornos o estados. Estos compuestos también pueden usarse para tratar la degeneración macular asociada con la neovascularización, tal como AMD.

Las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria se consideran particularmente útiles para el tratamiento de cánceres incluyendo tumores tales como carcinomas de piel, mama, cerebro, cervical, carcinomas testiculares, etc. Son particularmente útiles en el tratamiento de tumores metastásicos o malignos. Más particularmente, los cánceres que pueden tratarse mediante las composiciones y métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, tipos tumorales tales como carcinomas y sarcomas astrocíticos, de mama, cervicales, colorrectales, endometriales, esofágicos, gástricos, de cabeza y cuello, hepatocelulares, laríngeos, pulmonares, orales, de ovario, próstata y tiroides. Más específicamente, estos compuestos pueden usarse para tratar: sarcoma cardíaco (angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma, liposarcoma), mixoma, rhabdomyoma, fibroma, lipomas y teratoma; pulmón: carcinoma broncogénico (de células escamosas, de células pequeñas no diferenciado, de células grandes no diferenciado, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; gastrointestinal: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomyosarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomyosarcoma), páncreas (adenocarcinoma de ductal, insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomyoma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosos, hamartoma, leiomyoma); tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células de transición, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma); hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma; hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células del retículo), mieloma múltiple, cordoma tumoral de células gigantes maligno, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de medula espinal, meningioma, glioma, sarcoma); ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cuello del útero (carcinoma cervical, displasia cervical pretumoral), ovarios (carcinoma ovárico) (cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de células de la granulosa-teca, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioides (rhabdomyosarcoma embrionario), carcinoma de trompas de Falopio; hematológico: sangre (leucemia mieloide (aguda y crónica), leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (linfoma maligno); piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, nevus displásico o mola, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y glándulas suprarrenales: neuroblastoma. Por lo tanto, la expresión "célula cancerosa", como se proporciona en la presente memoria, incluye una célula afectada por uno cualquiera o relacionada con las afecciones identificadas anteriormente.

En comparación con derivados de 2,4-diaminopiridina relacionados descritos en otra parte, los compuestos de la presente invención contienen una función éster de ácido hidroxámico en el anillo de 4-aminofenilo en la posición 2 y un aminopirazol en la posición 2 en el anillo de piridina. La función éster de ácido hidroxámico en el anillo de fenilo en comparación con la amida correspondiente aumenta la potencia frente a la FAK del orden de 2,5 veces, particularmente *in vitro*, y mejora la selectividad por FAK con respecto a otras enzimas. El pirazol reduce la reactividad en el citocromo P450. Por lo tanto, la combinación de la construcción de éster de ácido hidroxámico en el anillo de fenilo con un aminopirazol en posición 2 en el anillo de piridina proporciona compuestos con mayor seguridad y eficacia con respecto a otros inhibidores de FAK tales como los derivados de 2,4-diaminopiridina.

Los compuestos aquí descritos pueden combinarse con o co-administrarse con otros agentes terapéuticos, particularmente agentes que pueden aumentar la actividad o el tiempo de disposición de los compuestos. Las terapias de combinación comprenden la administración de al menos un compuesto descrito y el uso de al menos otro método de tratamiento. En una realización, las terapias de combinación de acuerdo con la invención comprenden la administración de al menos un compuesto descrito y terapia quirúrgica. En una realización, las terapias de

combinación comprenden la administración de al menos un compuesto descrito y radioterapia. En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de al menos un compuesto descrito y al menos un agente de cuidados paliativos (por ejemplo, al menos un agente antiemético). En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de al menos un compuesto descrito y al menos otro agente quimioterapéutico. En una realización particular, la invención comprende la administración de 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-*N*-(metiloxi)benzamida o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y al menos un agente antineoplásico.

Mediante la expresión “co-administración” y derivados de la misma como se usa en la presente memoria, se entiende la administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada de un compuesto que inhibe la FAK, como se describe en la presente memoria, y un ingrediente o ingredientes activos adicionales, que se sabe que son útiles en el tratamiento de cánceres, incluyendo quimioterapia y tratamiento de radiación. La expresión ingrediente o ingredientes activos adicionales, como se usa en la presente memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico que se sabe que o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento para un cáncer. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran con una estrecha proximidad en el tiempo entre sí. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto puede administrarse por vía tópica y otro compuesto puede administrarse por vía oral.

Típicamente, cualquier agente antineoplásico que tenga actividad frente a un tumor susceptible que se trate puede co-administrarse en el tratamiento de cánceres especificados en la presente invención. Pueden encontrarse ejemplos de dichos agentes en *Cancer Principles and Practice of Oncology* de V.T. Devita and S. Hellman (editors), 6ª edición (15 de febrero de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un especialista en la técnica sería capaz de discernir las combinaciones de agentes que serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación, agentes anti-microtúbulos tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes tales como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triacenos; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas; inhibidores de la topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos anti-folato; inhibidores de la topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señales; inhibidores de la angiogénesis o de tirosina quinasa no asociada a receptores; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Típicamente, cualquier agente quimioterapéutico que tenga actividad contra un neoplasma susceptible de tratarse puede utilizarse en combinación con los compuestos de la invención, siempre que el agente particular sea clínicamente compatible con la terapia que emplea un compuesto de la invención. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación: agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, agentes antimetabólicos, inhibidores de la topoisomerasa I y II, hormonas y análogos hormonales; retinoides, inhibidores de la ruta de transducción de señales incluyendo inhibidores del crecimiento celular o de la función de factores de crecimiento, inhibidores de la angiogénesis e inhibidores de serina/treonina quinasa u otras quinastas; inhibidores de quinasa dependiente de ciclina; terapias antisentido y agentes inmunoterapéuticos incluyendo monoclonales, vacunas u otros agentes biológicos.

Los inhibidores de la ruta de transducción de señales son los inhibidores que bloquean o inhiben un proceso químico que provoca un cambio intracelular. Como se usa en la presente memoria, este cambio es la proliferación, diferenciación o supervivencia celular. Los inhibidores de la ruta de transducción de señales útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación, inhibidores de tirosina quinastas asociadas a receptores, tirosina quinastas no asociadas a receptores, bloqueantes del dominio SH2/SH3, serina/treonina quinastas, fosfatidil inositol-3-OH quinastas, señalización de mioinositol y oncogenes Ras. En las composiciones y métodos descritos anteriormente pueden emplearse inhibidores de la ruta de transducción de señales en combinación con los compuestos de la invención.

También pueden encontrar utilidad en la presente invención inhibidores de la angiogénesis que son inhibidores de quinastas asociadas a receptores. Anteriormente se han descrito inhibidores de la angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE-2 en relación con los inhibidores de la transducción de señales (ambos son tirosina quinastas asociadas a receptores). Pueden usarse otros inhibidores en combinación con los compuestos de la invención. Por ejemplo, también pueden resultar útiles en combinación con los compuestos de la invención anticuerpos anti-VEGF que no reconocen VEGFR (la tirosina quinasa asociada a receptores), pero se unen al ligando; inhibidores de molécula pequeña de integrina ( $\alpha$ ,  $\beta_3$ ) que inhiben la angiogénesis; endostatina y angiostatina (no-RTK). Un ejemplo de un anticuerpo contra VEGFR es bevacizumab (AVASTIN®).

Están en desarrollo varios inhibidores de receptores de factores de crecimiento e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa, oligonucleótidos antisentido y aptámeros. Cualquiera de estos inhibidores de receptores de factores de crecimiento puede emplearse en combinación con los compuestos de la invención en cualquiera de las composiciones y métodos/ usos descritos en la presente memoria. El trastuzumab (Herceptin®) es un ejemplo de un anticuerpo anti-erbB2 inhibidor de la función de factores de crecimiento. Un



ejemplo de un anticuerpo anti-erbB1 inhibidor de la función de factores de crecimiento es cetuximab (Erbix™, C225). El bevacizumab (Avastin®) es un ejemplo de un anticuerpo monoclonal dirigido contra VEGFR. Los ejemplos de inhibidores de molécula pequeña de receptores del factor de crecimiento epidérmico incluyen, pero sin limitación, lapatinib (Tykerb™) y erlotinib (TARCEVA®). El mesilato de imatinib (GLEEVEC®) es un ejemplo de un inhibidor de PDGFR. Los ejemplos de inhibidores de VEGFR incluyen pazopanib, ZD6474, AZD2171, PTK787, sunitinib y sorafenib. Son de interés particular el pazopanib y los compuestos de fórmula I y sus sales.

Los agentes anti-microtúbulos o anti-mitóticos son agentes con especificidad de fase activos contra los microtúbulos de células tumorales durante la fase M o la fase de mitosis del ciclo celular. Los ejemplos de agentes anti-microtúbulos incluyen, pero sin limitación, diterpenoides y alcaloides de la vinca.

10 Los diterpenoides, que proceden de fuentes naturales, son agentes anticancerosos con especificidad de fase que funcionan en las fases G<sub>2</sub>/M del ciclo celular. Se piensa que los diterpenoides estabilizan la subunidad de β-tubulina de los microtúbulos por unión con esta proteína. Después parece inhibirse el desensamblaje de la proteína, deteniéndose la mitosis y siguiendo la muerte celular. Los ejemplos de diterpenoides incluyen, pero sin limitación, paclitaxel y su análogo docetaxel.

15 El paclitaxel, 4,10-diacetato-2-benzoato-13-éster de 5β,20-epoxi-1,2,4,7β,10β,13-hexa-hidroxitax-11-en-9-ona con (2R, 3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto de diterpeno natural aislado a partir del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia*, y está disponible en el mercado como una solución inyectable conocida como TAXOL®. Es un miembro de la familia de terpenos conocida como taxanos. Se aisló por primera vez en 1971 por Wani et al. J. Am. Chem., Soc., 93: 2325. 1971), que caracterizaron su estructura por métodos químicos y cristalográficos de rayos X. Un mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad del paclitaxel para unirse a la tubulina, inhibiendo de este modo el desarrollo de células cancerosas. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277: 665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem., 256: 10435-10441 (1981). Para una revisión de la síntesis y actividad anticancerosa de algunos derivados de paclitaxel véase: D.G.I. Kingston et al., Studies in Organic Chemistry vol. 26, titulado "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) pp 219-235.

20 El paclitaxel se ha autorizado para uso clínico en el tratamiento del cáncer de ovario resistente a tratamiento en los Estados Unidos (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64: 583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111: 273, 1989) y para el tratamiento de cánceres de mama (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83: 1797, 1991). Es un posible candidato para el tratamiento de neoplasmas en la piel (Einzig et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) y carcinomas de cabeza y cuello (Forastire et al., Sem. Oncol., 20: 56, 1990). El compuesto también muestra potencial para el tratamiento de la enfermedad renal poliquística (Woo et al., Nature, 368: 750, 1994), cáncer de pulmón y malaria. El tratamiento de pacientes con paclitaxel ocasiona supresión de la médula ósea (múltiples linajes celulares, Ignoff, R.J. et al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada con la duración de la dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, CM et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p. 16-23, 1995).

30 El docetaxel, 13-éster de éster N-terc-butílico de (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina con 4-acetato-2-benzoato de 5β-20-epoxi-1,2,4,7β,10β,13-hexahidroxitax-11-en-9-ona trihidrato, está disponible en el mercado como una solución inyectable conocida como TAXOTERE®. El docetaxel está indicado para el tratamiento de cánceres de mama. El docetaxel es un derivado semisintético del paclitaxel, véase anteriormente, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraído de la acícula del tejo europeo. La toxicidad limitante de la dosis del docetaxel es la neutropenia.

35 Los alcaloides de la vinca son agentes antineoplásicos con especificidad de fase derivados de la planta vincapervinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular uniéndose específicamente a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida no puede polimerizarse en microtúbulos. Se piensa que la mitosis se detiene en la metafase produciéndose posteriormente la muerte celular. Los ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen, pero sin limitación, vinblastina, vincristina y vinorelbina.

40 La vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible en el mercado como VELBAN® como una solución inyectable. Aunque tiene una indicación posible como terapia de segunda línea de diversos tumores sólidos, está indicada principalmente en el tratamiento del cáncer testicular y diversos linfomas incluyendo la enfermedad de Hodgkin; y linfomas linfocíticos e histiocíticos. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis de la vinblastina.

45 La vincristina, 22-oxo-sulfato de vincaleucoblastina, está disponible en el mercado como ONCOVIN® como una solución inyectable. La vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado utilidad en regímenes de tratamiento para linfomas malignos de Hodgkin y no Hodgkin. Los efectos secundarios más comunes de la vincristina son alopecia y efectos neurológicos y en menor grado se producen efectos de mielosupresión y mucositis gastrointestinal.

50 La vinorelbina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-C'novincalucoblastina [R-(R\*,R\*)-2,3-dihidroxitaxanodioato (1:2) (sal)], disponible en el mercado como una solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de

la vinca semisintético. La vinorelbina está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos tales como cisplatino en el tratamiento de diversos tumores sólidos, particularmente cáncer pulmonar no microcíticos, de mama avanzado y de próstata que no responde a tratamiento con hormonas. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la vinorelbina.

5 Los complejos de coordinación de platino son agentes anticancerosos sin especificidad de fase que interactúan con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, experimentan acución y forman entrecruzamientos intra- e intercatenarios con el ADN causando efectos biológicos adversos en el tumor. Los ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, pero sin limitación, cisplatino y carboplatino.

10 El cisplatino, cis-diaminodichloroplatino, está disponible en el mercado como PLATINOL® como una solución inyectable. El cisplatino está indicado principalmente en el tratamiento de cáncer testicular y ovárico metastásico y cáncer de vejiga avanzado. Los efectos secundarios limitantes de la dosis principales del cisplatino son nefrotoxicidad, que puede controlarse mediante hidratación y diuresis, y ototoxicidad.

15 El carboplatino, diamino [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'] de platino está disponible en el mercado como PARAPLATIN® como una solución inyectable. El carboplatino está indicado principalmente en el tratamiento de primera y segunda línea del carcinoma de ovario avanzado. La supresión de la médula ósea es la toxicidad limitante de la dosis del carboplatino.

20 Los agentes alquilantes son agentes anticancerosos sin especificidad de fase y electrófilos fuertes. Típicamente, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, por alquilación, con el ADN a través de restos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación altera la función del ácido nucleico ocasionando la muerte celular. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero sin limitación, mostazas nitrogenadas tales como ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; alquil sulfonatos tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina; y triacenos tales como dacarbazina.

25 La ciclofosfamida, 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforina monohidrato está disponible en el mercado como una solución inyectable o comprimidos conocidos como CYTOXAN®. La ciclofosfamida está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la ciclofosfamida son alopecia, náuseas, vómitos y leucopenia.

30 El melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible en el mercado como una solución inyectable o comprimidos conocidos como ALKERAN®. El melfalán está indicado para el tratamiento paliativo del mieloma múltiple y el carcinoma epitelial no reseccable. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del melfalán.

35 El clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico, está disponible en el mercado como comprimidos LEUKERAN®. El clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia linfática crónica y linfomas malignos tales como linfosarcoma, linfoma folicular gigante y enfermedad de Hodgkin. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del clorambucilo.

El busulfán, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible en el mercado como comprimidos MYLERAN®. El busulfán está indicado para el tratamiento paliativo de la leucemia mielógena crónica. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del busulfán.

40 La carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, está disponible en el mercado como viales individuales de material liofilizado como BiCNU®. La carmustina está indicada para el tratamiento paliativo como agente único o en combinación con otros agentes para tumores cerebrales, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin y linfomas no-Hodgkin. La mielosupresión retardada es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la carmustina.

45 La dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida, está disponible en el mercado como viales individuales de material conocido como DTIC-Dome®. La dacarbazina está indicada para el tratamiento del melanoma maligno metastásico, y en combinación con otros agentes para el tratamiento de segunda línea de la enfermedad de Hodgkin. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la dacarbazina son náuseas, vómitos y anorexia.

50 Los antibióticos antineoplásicos son agentes sin especificidad de fase que se unen o se intercalan con el ADN. Típicamente, dicha acción produce complejos de ADN estables o una rotura de la cadena que altera la función normal de los ácidos nucleicos conduciendo a la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, pero sin limitación, actinomicinas tales como dactinomicina, antraciclinas tales como daunorubicina y doxorubicina; y bleomicinas.

55 La dactinomicina, también conocida como actinomicina D, está disponible en el mercado en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está indicada para el tratamiento del tumor de Wilm y el rabdomiosarcoma. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la dactinomicina son náuseas, vómitos y anorexia.

- 5 La daunorubicina, hidrocloreto de (8S-cis)-8-acetil-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi-β-L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenoquina, está disponible en el mercado como una forma inyectable liposomal conocida como DAUNOXOME® o como un inyectable conocido como CERUBIDINE®. La daunorubicina está indicada para la inducción de remisión en el tratamiento de leucemia no linfocítica aguda y sarcoma de Kaposi asociado con VIH avanzado. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la daunorubicina.
- 10 La doxorubicina, hidrocloreto de (8S,10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi-β-L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicoliloil, 7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenoquina, está disponible en el mercado como una forma inyectable conocida como RUBEX® o ADRIAMYCIN RDF®. La doxorubicina está indicada principalmente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda y de la leucemia mieloblástica aguda, pero también es un componente útil en el tratamiento de algunos tumores sólidos y linfomas. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la doxorubicina.
- 15 La bleomicina, una mezcla de antibióticos glicopeptídicos citotóxicos aislados a partir de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible en el mercado como BLENOXANE®. La bleomicina está indicada como un tratamiento paliativo, como un agente único o en combinación con otros agentes, del carcinoma de células escamosas, linfomas y carcinomas testiculares. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la bleomicina son toxicidades pulmonares y cutáneas.
- Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero sin limitación, epipodofilotoxinas.
- 20 Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos con especificidad de fase derivados de la mandrágora. Las epipodofilotoxinas afectan típicamente a células en las fases S y G<sub>2</sub> del ciclo celular por formación de un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN causando roturas de la cadena de ADN. Las roturas de la cadena se acumulan y se produce la muerte celular. Los ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, pero sin limitación, etopósido y tenipósido.
- 25 El etopósido, 9[4,6-O-(R)-etiliden-β-D-glucopiranosido de 4'-desmetil-epipodofilotoxina, está disponible en el mercado como una solución inyectable o cápsulas con el nombre VePESID® y se conoce comúnmente como VP-16. El etopósido está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de cáncer testicular y pulmonar no microcítico. La mielosupresión es el efecto secundario más común del etopósido. La incidencia de leucopenia tiende a ser más grave que la trombocitopenia.
- 30 El tenipósido, 9[4,6-O-(R)-teniliden-β-D-glucopiranosido] de 4'-desmetil-epipodofilotoxina, está disponible en el mercado como una solución inyectable con el nombre VUMON® y se conoce comúnmente como VM-26. El tenipósido está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda en niños. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común del tenipósido. El tenipósido puede inducir tanto leucopenia como trombocitopenia.
- 35 Los agentes neoplásicos antimetabolito son agentes antineoplásicos con especificidad de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de bases de purina o pirimidina y limitando de esta manera la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no avanza y se produce la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolito incluyen, pero sin limitación, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.
- 40 El 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2-(1H,3H)pirimidinadiona, está disponible en el mercado como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora tanto en el ARN como en el ADN. El resultado típicamente es la muerte celular. El 5-fluorouracilo está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. Los efectos secundarios limitantes de la dosis de 5-fluorouracilo son mielosupresión y mucositis. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluorodesoxiuridina (floxuridina) y monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.
- 45 La citarabina, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona, está disponible en el mercado como CYTOSAR-U® y se conoce comúnmente como Ara-C. Se piensa que la citarabina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la elongación de cadena de ADN por incorporación terminal de citarabina en la cadena de ADN en crecimiento. La citarabina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. Otros análogos de citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicidina (gemcitabina). La citarabina induce leucopenia, trombocitopenia y mucositis.
- 50 La mercaptopurina, 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona monohidrato, está disponible en el mercado como PURINETHOL®. La mercaptopurina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN mediante un mecanismo aún no especificado. La mercaptopurina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. La mielosupresión y la mucositis gastrointestinal son los efectos secundarios esperados de la mercaptopurina a altas dosis. Un análogo de mercaptopurina útil es la azatioprina.
- 55

La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible en el mercado como TABLOID®. La tioguanina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN mediante un mecanismo aún no especificado. La tioguanina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de tioguanina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia. Sin embargo, se producen efectos secundarios gastrointestinales y pueden ser limitantes de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxiniladenina, fosfato de fludarabina y cladribina.

La gemcitabina, monohidrocloruro de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero β) está disponible en el mercado como GEMZAR®. La gemcitabina presenta especificidad de fase celular en la fase S y bloqueo del avance de las células a través del límite G1/S. La gemcitabina está indicada en combinación con cisplatino en el tratamiento de cáncer pulmonar no microcítico localmente avanzado y en solitario en el tratamiento de cáncer pancreático localmente avanzado. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de gemcitabina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia.

El metotrexato, ácido N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino] benzoil]-L-glutámico está disponible en el mercado como metotrexato sódico. El metotrexato presenta efectos de fase celular específicamente en la fase S inhibiendo la síntesis, reparación y/o replicación del ADN por medio de la inhibición de la ácido dihidrofólico reductasa que es necesaria para la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato. El metotrexato está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de coriocarcinoma, leucemias meníngea, linfoma no-Hodgkin y carcinomas de mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. Los efectos secundarios esperados de la administración de metotrexato son mielosupresión (leucopenia, trombocitopenia y anemia) y mucositis.

Las camptotecinas, incluyendo camptotecina y derivados de camptotecina, están disponibles o en desarrollo como inhibidores de la topoisomerasa I. Se cree que la actividad citotóxica de las camptotecinas está relacionada con su actividad inhibidora de la topoisomerasa I. Los ejemplos de camptotecinas incluyen, pero sin limitación, irinotecán, topotecán y las diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20-camptotecina descritas a continuación.

El irinotecán HCl, hidrocloreuro de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4)-piperidinopiperidino]carboniloxi]-1H-pirano [3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14 (4H,12H)-diona, está disponible en el mercado como una solución inyectable CAMPTOSAR®.

El irinotecán es un derivado de camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo de topoisomerasa I - ADN. Se piensa que la citotoxicidad se produce como resultado de roturas irreparables de la doble cadena causadas por la interacción de la topoisomerasa I: ADN: irinotecán o complejo ternario SN-38 con enzimas de la replicación. El irinotecán está indicado para el tratamiento del cáncer metastásico de colon o de recto. Los efectos secundarios limitantes de la dosis del irinotecán HCl son mielosupresión, incluyendo neutropenia, y efectos GI incluyendo diarrea.

El topotecán HCl, monohidrocloruro de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6',7']indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona está disponible en el mercado como la solución inyectable HYCAMTIN®. El topotecán es un derivado de la camptotecina que se une al complejo de topoisomerasa I - ADN y evita la religación de roturas de cadenas sencillas producida por la topoisomerasa I en respuesta a la tensión de torsión de la molécula de ADN. El topotecán está indicado para el tratamiento de segunda línea del carcinoma metastásico del cáncer de ovario y pulmonar microcítico. El efecto secundario limitante de la dosis del topotecán HCl es mielosupresión, principalmente neutropenia.

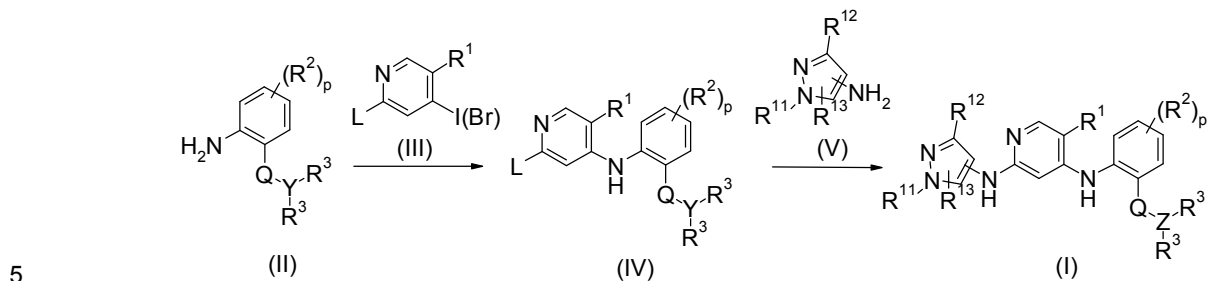
Los siguientes esquemas ilustran cómo pueden prepararse compuestos de fórmula (I). Los disolventes y condiciones de reacción específicas indicadas también son ilustrativas.

#### Esquemas

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse por los métodos que se indican a continuación en el Esquema 1. Los compuestos de fórmula (II) y (III) están disponibles en el mercado o pueden sintetizarse usando técnicas convencionales en la técnica. El grupo L para el compuesto (III) representa un grupo saliente tal como F o Cl. Los compuestos de fórmula (II) y (III) pueden hacerse reaccionar a la temperatura de reflujo o en condiciones de microondas para producir el intermedio (IV). La reacción de adición se realiza típicamente usando disolventes práticos polares tales como *n*-butanol o iso-propanol. Como alternativa, pueden usarse condiciones de reacción de acoplamiento catalizada con un metal. Cuando el compuesto (II) incluye un grupo funcional que necesita protección, por ejemplo, un grupo hidroxilo o amino, ventajosamente se usa un grupo protector apropiado. Los compuestos de fórmula (IV) pueden hacerse reaccionar después con un aminopirazol (V), que está disponible en el mercado o que puede sintetizarse usando técnicas convencionales en la técnica, para producir un compuesto de fórmula (I). La reacción se realiza típicamente en presencia de un catalizador de metal, tal como una sal de paladio, junto con un ligando de fosfina apropiado. Como alternativa, la reacción puede realizarse con una cantidad catalítica de un ácido tal como ácido clorhídrico o trifluoroacético y en un disolvente adecuado tal como agua, 1,4-dioxano o iso-propanol o

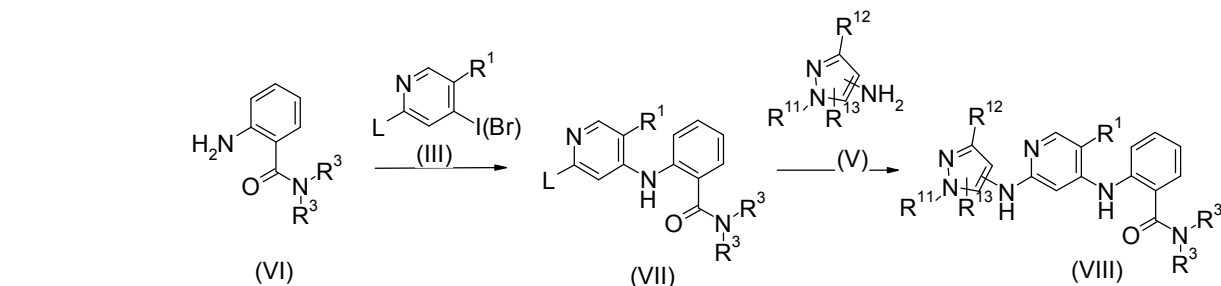
una combinación de los mismos; la reacción se realiza ventajosamente a una temperatura elevada, por ejemplo, en condiciones de calentamiento a reflujo, o usando un aparato de microondas. El catalizador ácido está presente típicamente en una cantidad de 10-30% en moles con respecto al compuesto de fórmula (I).

Esquema 1



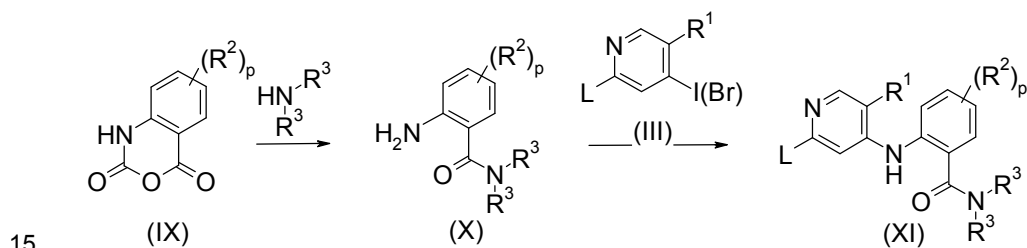
Los compuestos de fórmula (VIII) pueden prepararse convenientemente por los métodos indicados en el Esquema 1, pero partiendo con una antranilamida (VI) apropiada, como se indica en el Esquema 2.

Esquema 2



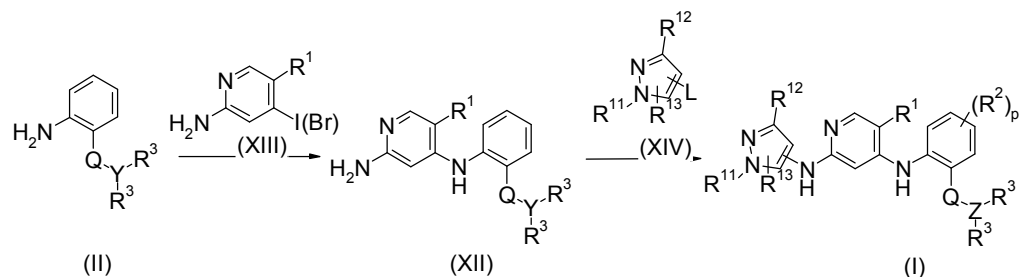
El compuesto (VI) puede contener sustituyentes adicionales. Por ejemplo, como se muestra en el Esquema 3, la benzoxazina (IX), que está disponible en el mercado o se sintetiza usando técnicas convencionales en la técnica, puede someterse a apertura del anillo con una amina para formar la benzamida (X), que después puede experimentar una adición con el compuesto (III) para producir el compuesto de fórmula (XI).

Esquema 3



Un compuesto de fórmula (XII) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (XIII). Esta reacción puede realizarse como se ha descrito en el Esquema 1. Después, los compuestos de fórmula (XII) pueden hacerse reaccionar con un compuesto de fórmula (XIV) para dar compuestos de fórmula (I). La reacción puede realizarse en un disolvente inerte, en presencia de un catalizador de metal y un ligando apropiado.

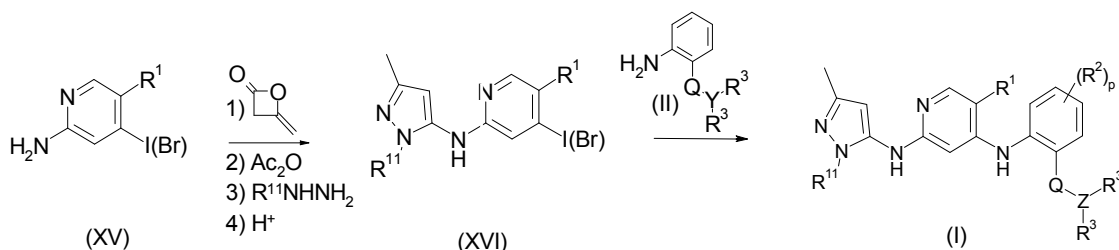
Esquema 4



Algunos compuestos de fórmula (I) también pueden prepararse como se indica en el Esquema 5. El grupo amino del compuesto de fórmula (XV) puede hacerse reaccionar primero con diceteno seguido de acilación y tratamiento con una hidrazina. Después, el compuesto de fórmula (XVI) puede obtenerse por tratamiento con ácido y después hacerse reaccionar con un compuesto de fórmula (II) para dar un compuesto de fórmula (I). Esta última reacción puede realizarse como se describe en el Esquema 1.

5

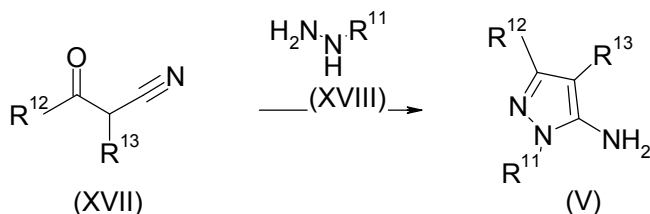
Esquema 5



Los compuestos de fórmula (V) pueden prepararse por condensación de una hidrazina sustituida (XVIII) con la ciano-cetona apropiada (XVII), por ejemplo, de acuerdo con los procedimientos de Honma, T. *et al. J. Med. Chem.* **2002**, Vol. 44 (26), 4628-4640 o Adachi, I. *et al. Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1987**, 35(8), 3235-52 como se muestra en el Esquema 6.

10

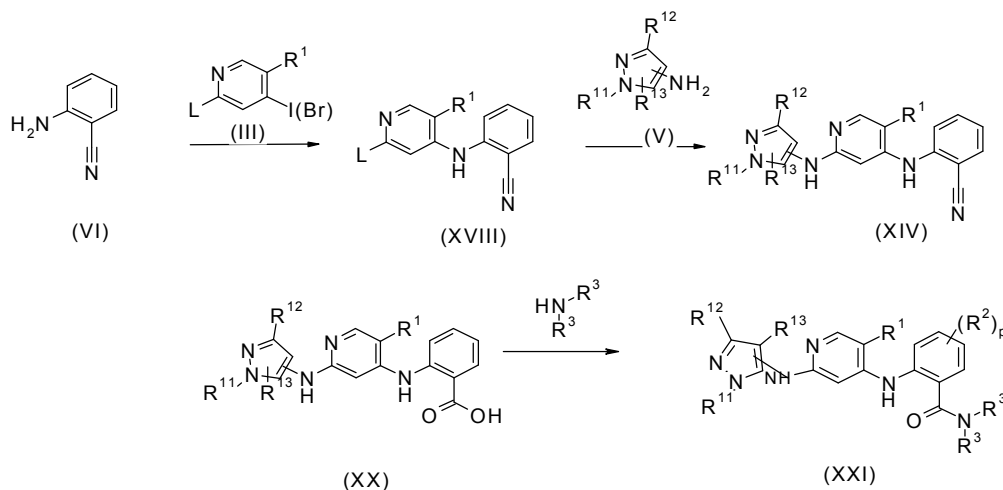
Esquema 6



Esquema 7

Un compuesto de fórmula (XXI) también puede prepararse como se muestra en el Esquema 7. El nitrilo de fórmula (XIV) puede hidrolizarse para dar un ácido carboxílico de fórmula (XX) y después acoplarse con una amina para dar compuestos de fórmula (XXI).

15



PARTE EXPERIMENTAL

20 Ensayo bioquímico de la actividad de la FAK

Ensayo 1: Se adquirió FAK marcada con GST (marcada con glutatión S-transferasa) en Invitrogen (PV3832) ([www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com)). La actividad de FAK se midió por control de la fosforilación de un sustrato peptídico (Ac-RRRRRRSETDDYAEIID-NH<sub>2</sub>; (SEC ID N° 1), es decir, Ac-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Ser-Glu-Thr-Asp-Asp-Tyr-Ala-Glu-Ile-Ile-Asp-NH<sub>2</sub>) en presencia de un ATP radiomarcado. Para medir los inhibidores de FAK, se prepararon primero compuestos como una solución madre 10 x en DMSO al 10%. Se añadió una pequeña porción de cada solución (4

25

- 5  $\mu\text{l}$ ) a una placa de 96 pocillos (Corning, 3884). Se preparó una solución de GST-FAK 6 nM en tampón de reacción 1,1x que contenía HEPES 44 mM, pH = 7,2,  $\text{MgCl}_2$  11 mM,  $\text{MnCl}_2$  2,2 mM, DTT 1,1 mM y Tween-20 al 0,011%. Después, se preincubaron 20  $\mu\text{l}$  de la solución de GST-FAK 6 nM con los compuestos durante 30 min a temperatura ambiente. La reacción se inició por adición de 16  $\mu\text{l}$  de sustratos (péptido 62,5  $\mu\text{M}$ , ATP 5  $\mu\text{M}$  y  $^{33}\text{P}$ - $\square$ -ATP a  $\sim 0,02$  mCi/ml) preparados en el tampón de reacción anterior. Se dejó que la reacción continuara durante 90 min antes de interrumpirse con 40  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 1%. Una porción de la mezcla de reacción (60  $\mu\text{l}$ ) se transfirió a una placa con filtro de fosfo-celulosa (Millipore; www.millipore.com, MAPHNOB50) y se incubó durante 20 minutos. La placa se filtró, se lavó tres veces usando 150  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 0,5% y se secó a 50°C durante 30 min. Después de la adición de 60  $\mu\text{l}$  de Microscint-20 a la placa, se midió la radiactividad usando un TopCount (PerkinElmer, www.PerkinElmer.com).
- 10 Ensayo 2: Se preparó Flag-His-TEV-FAK1 en el laboratorio. Se expresó FAK humana de longitud completa usando baculovirus en células Sf9 con marcadores FLAG-6xHis N-terminales seguido de un sitio de escisión TEV (FLAG-6xHis-TEV-huFAK). La actividad de FAK se midió monitorizando la fosforilación del sustrato LANCE Ultra  $\text{NH}_2$ - (ULight)-CSETDDYAEIID-COOH (SEC ID N°: 2) (C = cisteína, S = serina, E = ácido glutámico, T = treonina, D = ácido aspártico, Y = tirosina, A = alanina, I = isoleucina) (adquirido en Perkin Elmer Life Sciences). Para medir
- 15 inhibidores de FAK, se prepararon primero compuestos como una solución madre 100X en DMSO al 100%. Una pequeña porción de cada solución de compuesto (50 nl) se añadió a una placa de microtitulación de volumen reducido de 384 pocillos negros (Greiner 784076). Se preparó una solución de Flag-His-TEV-FAK1 1,2 nM en tampón de reacción 1X que contenía Tris/Tris-HCl 40 mM,  $\text{MgCl}_2$  10 mM, CHAPS 1 mM a un pH de 7,5, con DTT 1 mM añadido. Se añadieron 2,5  $\mu\text{l}$  de la solución de Flag-FAK 1,2 nM a las placas y se preincubaron con los
- 20 compuestos durante 30 min a temperatura ambiente. Después se añadieron 2,5  $\mu\text{l}$  de solución de sustrato (0,1  $\mu\text{M}$  de sustrato específico P2 FAK-tide (Lance Ultra  $\text{NH}_2$ - (ULight)-CSETDDYAEIID-COOH (SEC ID N°: 2) de Perkin Elmer), ATP 10  $\mu\text{M}$  y el tampón de reacción 1x descrito anteriormente) a la placa para iniciar la reacción. Después de incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente, la reacción se interrumpió por la adición de 5  $\mu\text{l}$  de EDTA 20 mM y anticuerpos Eu-anti-pTyr 5 nM en tampón de detección LANCE 1X. Después de una incubación de 30
- 25 minutos a temperatura ambiente, la placa se leyó en un Perkin Elmer Viewlux con un filtro de excitación a 320-340 nm y se midió la emisión a 615 nm y 665 nm. La proporción de 665 nm/615 nm se usa para la normalización de los datos.

La siguiente Tabla A proporciona datos específicos para un compuesto del ejemplo presentado a continuación procesado en los dos ensayos anteriores. Estos datos se generaron en al menos un proceso en el ensayo indicado; los procesos de ensayo repetidos pueden haber proporcionado o pueden dar lecturas que varían en cierto grado de estos datos.

Tabla A

Ejemplo N°	Ensayo 1 FAK TRF PXC <sub>50</sub>	Ensayo 2 FAK H 31284A TRF PXC <sub>50</sub>
1	9,4	8,7

## Ejemplos Químicos

- 35 Los siguientes ejemplos químicos tienen propósitos ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente invención. Los compuestos se nombraron usando el programa informático ACD Name (Advanced Chemistry Development, www.acdlabs.com).

Se hizo funcionar un espectrómetro de masas de cuadrupolo único PE Sciex API 150 (PE Sciex, Thornhill, Ontario, Canadá) usando ionización por electronebulización en el modo de detección de iones positivos. El gas de nebulización se generó a partir de un generador de aire cero (Balston Inc., Haverhill, MA; www.parker.com) y se suministró a 448,16 kPa (65 psi) y el gas protector era nitrógeno de alta pureza suministrado desde un recipiente de nitrógeno líquido Dewar a 344,74 kPa (50 psi). El voltaje aplicado a la aguja de electronebulización fue de 4,8 kV. el orificio se ajustó a 25 V y el espectrómetro de masas se examinó a una velocidad de 0,5 exploraciones/seg usando una masa de etapa de 0,2 amu y recolección de datos de perfil.

45 Método A, LCMS. Se introducen muestras en el espectrómetro de masas usando un automuestreador CTC PAL (LEAP Technologies, Carrboro, NC) equipado con una jeringa hamilton de 10  $\mu\text{l}$  que realizó la inyección en una válvula de inyección Valco de 10 puertos. La bomba de HPLC era una Shimadzu LC-10ADvp (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD) accionada a 0,3 ml/min y con un gradiente lineal de 4,5% de A a 90% de B en 3,2 min con un mantenimiento de 0,4 min. La fase móvil se componía de 100% de ( $\text{H}_2\text{O}$  con TFA al 0,02%) en el recipiente A y 100% de ( $\text{CH}_3\text{CN}$  con TFA al 0,018%) en el recipiente B. La fase estacionaria es Aquasil (C18) y las dimensiones de la columna son 1 mm x 40 mm. La detección se realizó por UV a 214 nm, dispersión de luz evaporativa (ELSD) y MS.

50 Método B, LCMS. Como alternativa, se usó un sistema de HPLC analítica Agilent 1100 con una LC/MS y se accionó a 1 ml/min con un gradiente lineal de 5% de A a 100% de B en 2,2 min con un mantenimiento de 0,4 min. La fase

móvil se componía de 100% de (H<sub>2</sub>O con TFA al 0,02%) en el recipiente A y 100% de (CH<sub>3</sub>CN con TFA al 0,018%) en el recipiente B. La fase estacionaria fue Zorbax (C8) con un tamaño de partículas de 3,5 μm y las dimensiones de la columna fueron 2,1 mm x 50 mm. La detección se realizó por UV a 214 nm, dispersión de luz evaporativa (ELSD) y MS.

- 5 Método B, LCMS. Como alternativa, se usó un MDSSCIEX API 2000 equipado con una columna capilar de (50 x 4,6 mm, 5 μm). El análisis por HPLC se realizó en un sistema de UPLC Agilent-1200 series equipado con una columna Zorbax SB-C18 (50 x 4,6 mm, 1,8 μm) eluyendo con CH<sub>3</sub>CN:tampón acetato de amonio. Las reacciones se realizaron en el microondas (CEM, Discover).

- 10 Los espectros de 1H RMN (en lo sucesivo "RMN") se registraron a 400 MHz usando un instrumento Bruker AVANCE 400 MHz, usando un administrador ACD Spect ver. 10 para el reprocesamiento. Las multiplicidades indicadas son: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete, m = multiplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, etc y a indica una señal ancha.

- 15 HPLC analítica: Los productos se analizaron por un sistema de Cromatografía Analítica Agilent 1100, con una columna Zorbax XDB-C18 de 4,5 x 75 mm (3,5 μm) a 2 ml/min con un gradiente de 4 min de CH<sub>3</sub>CN al 5% (ácido fórmico al 0,1%) a CH<sub>3</sub>CN al 95% (ácido fórmico al 0,1%) en H<sub>2</sub>O (ácido fórmico al 0,1%) y un mantenimiento de 1 min.

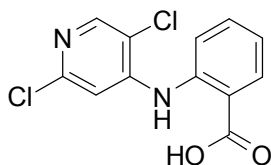
- 20 HPLC preparativa: Los productos se purificaron usando un sistema de cromatografía preparativa Gilson con una columna YMC CombiPrep ODS-A de 75 x 30 mm de D.I. (5 μm) (www.aguas.com) a 50 ml/min con un gradiente de 10 min de CH<sub>3</sub>CN al 5% (ácido fórmico al 0,1%) a CH<sub>3</sub>CN al 95% (ácido fórmico al 0,1%) en H<sub>2</sub>O (ácido fórmico al 0,1%) y un mantenimiento de 2 min; como alternativa, los productos se purificaron usando un sistema de Cromatografía Preparativa Agilent 1100, con una columna Gemini C18 de 100 x 30 mm (5 μm) a 60 ml/min con un gradiente de 10 min de CH<sub>3</sub>CN al 5% (ácido fórmico al 0,1%) a CH<sub>3</sub>CN al 95% (ácido fórmico al 0,1%) en H<sub>2</sub>O (ácido fórmico al 0,1%) y un mantenimiento de 2 min.

- 25 La cromatografía preparativa de fase normal se realizó usando un Sistema Analogix IntelliFlash 280 con columnas SuperFlash Septra Si 50. Como alternativa, la HPLC de fase inversa se realizó en Agilent usando una columna Zorbax SB - C18 (21,2 x 250 mm, 7 mm) eluyendo con CH<sub>3</sub>CN:tampón acetato de amonio (10 μM) a pH 6,8.

### Ejemplos

#### Intermedio 1

Ácido 2-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]benzoico

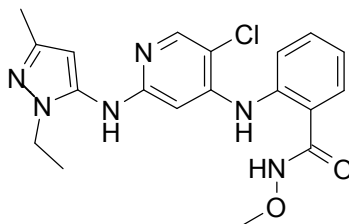


- 30 Una mezcla de 2,5-dicloro-4-yodopiridina (10 g, 36,5 mmol), ácido 2-aminobenzoico (4,85 g, 35,4 mmol), DPEPhos [bis(2-difenilfosfinofenil)éter] (1,6 g, 2,97 mmol), acetato de paladio (II) (160 mg, 0,713 mmol) y K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (20 g, 94 mmol) se desgasificó y se calentó a 120°C (temperatura del baño de aceite) durante 20 h. Después de 20 h, el análisis LCMS mostró que aún quedaba 33% de material de partida (en relación con el producto deseado). A la
- 35 mezcla se le añadieron 160 mg más de Pd(OAc)<sub>2</sub> y se calentó a 120°C durante 24 h más. El LCMS mostró que la conversión se había completado. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente seguido de filtración, lavando con EtOAc. Los sólidos se acidificaron a pH = 7-8 seguido de filtración. Sin embargo, la mezcla era una pasta y los sólidos recogidos no pudieron secarse completamente. Los sólidos (11 g) se acidificaron con HCl 6 N a pH = 1. La pasta resultante se filtró y se lavó con agua y TBME. El sólido se secó al vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> durante 2 días para dar el
- 40 compuesto del título (7,32 g, rendimiento de 60,2%). MS: M(C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) = 283,11, (M+H)<sup>+</sup> = 283,8; 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 13,6 (s, 1 H) 10,2 (s, 1 H) 8,3 (s, 1 H) 8,0 (d, 1 H) 7,6 (c, 2 H) 7,3 (s, 1 H) 7,2 (m, 1 H).

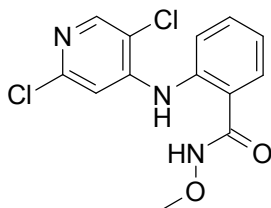


## Ejemplo de Referencia A

2-[(5-cloro-2-[(1-etil-3-metil-1H-pirazol-5-il)amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida



a) 2-[(2,5-Dicloro-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida



5

Un recipiente se cargó con ácido 3-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]benzoico (1,0 g, 3,53 mmol), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (677 mg, 3,53 mmol) e hidroxibenzotriazol (HOBt) (541 mg, 3,53 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF, 7,0 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. A esta solución se le añadió hidrocloreto de metoxilamina (0,3 g, 3,53 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 min más. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C usando un baño de hielo. A esta mezcla de reacción se le añadió diisopropiletilamina (1,2 ml, 7,06 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente una noche. Después de la concentración al vacío, el residuo se trató usando una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica se lavó con salmuera, después se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se filtró. El CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se retiró por evaporación rotatoria. El material en bruto se cargó sobre una columna de gel de sílice y se eluyó con MeOH en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> con NH<sub>4</sub>OH al 0,1%, dando el producto deseado 2-[(2, 5-dicloro-4-piridinil) amino]-N-(metiloxi)benzamida (850 mg, 2,72 mmol, rendimiento de 77%) MS: M(C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) = 312,15, (M+H)<sup>+</sup> = 312, 314; 1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 9,57 (s a, 1 H) 8,72 (s, 1 H) 8,22 (s, 1 H) 7,51 - 7,67 (m, 3H) 7,25 (s, 1 H) 7,07 - 7,21 (m, 1 H) 3,92 (s, 3 H).

15

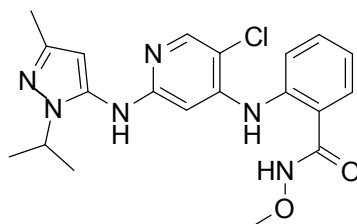
b) 2-[(5-Cloro-2-[(1-etil-3-metil-1H-pirazol-5-il)amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida

Un tubo para microondas de 20 ml se cargó con 2-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (100 mg, 0,320 mmol), 1-etil-3-metil-1H-pirazol-5-amina (60,1 mg, 0,481 mmol), carbonato de cesio (313 mg, 0,961 mmol), 1,4-dioxano (5,0 ml) y THF (1,0 ml). La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 10 min. Después, se añadieron (±)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno (19,95 mg, 0,032 mmol) y acetato de paladio (II) (3,60 mg, 0,016 mmol) en una cantidad mínima de 1,4-dioxano. El tubo se cerró herméticamente y la mezcla de reacción se calentó en un horno de microondas 160°C durante 40 min. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de celite. El filtrado se evaporó a sequedad y la mezcla de reacción en bruto se purificó por HPLC de fase inversa para dar el compuesto del título en forma de un sólido (16 mg, rendimiento del 24%) MS: M(C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) = 400,86, (M+H)<sup>+</sup> = 401; 1H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 7,92 (s, 1 H) 7,44 - 7,66 (m, 3 H) 7,11 - 7,25 (m, 1 H) 6,61 (s, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 3,98 (c, J = 7,3 Hz, 2 H) 3,80 (s, 3 H) 2,21 (s, 3 H) 1,32 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

25

## Ejemplo 1a

30 2-[(5-Cloro-2-[(3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il)amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida

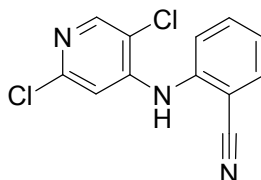


Un tubo para microondas se cargó con 2-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (70 mg, 0,224 mmol), {3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-amina (70 mg, 0,503 mmol) y carbonato de cesio (230 mg, 0,706 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 10 min. Al mismo tiempo, se añadieron BINAP (50 mg,

0,080 mmol) y acetato de paladio (II) (10 mg, 0,045 mmol). La mezcla de reacción se calentó en un microondas a 160°C durante 40 min. El material en bruto se purificó por HPLC de fase inversa (Gilson) eluyendo con CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O con ácido fórmico al 0,1%, dando un compuesto del título (15 mg, 15%); MS: M(C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) = 414,89, (M+H)<sup>+</sup> = 415, 416; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 9,42 (s a, 1 H) 8,71 (s a, 1 H) 8,02 (s, 1 H) 7,54 (s a, 1H) 7,06 (t, J = 7,5 Hz, 1 H) 6,48 (s, 1 H) 6,32 (s a, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 4,47 (dt, J = 13,4, 6,7 Hz, 1 H) 3,92 (s, 3 H) 2,26 (s, 3 H) 1,41 - 1,43 (d, J = 6,6 Hz, 2H).

## Intermedio 2

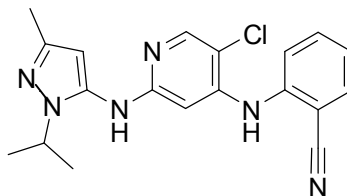
## 2-[(2,5-Dicloro-4-piridinil)amino]benzonitrilo



La solución de 2,5-dicloro-4-yodopiridina (100 g, 365 mmol), 2-aminobenzonitrilo (43,1 g, 365 mmol) y trifosfato potásico (233 g, 1095 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 l) se desgasificó con una corriente de N<sub>2</sub>. A esta solución se le añadieron DPEPhos (15,73 g, 29,2 mmol) y acetato de paladio (3,28 g, 14,60 mmol). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante 18 horas. La solución se filtró a través de 1,27 cm (0,5 pul) de celite y 0,51 cm (0,2 pulgadas) de sílice. La solución se evaporó. El sólido se suspendió en el éter dietílico y se filtró. El éter dietílico se concentró y el sólido resultante se filtró. Se aisló 2-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]benzonitrilo (80 g, 288 mmol, rendimiento de 79%) en forma de un sólido de color naranja. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 6,49 (s, 1 H) 7,50 (td, J = 7,58, 1,01 Hz, 1 H) 7,56 (d, J = 7,58 Hz, 1 H) 7,80 (td, J = 7,83, 1,77 Hz, 1 H) 7,95 (dd, J = 7,83, 1,52 Hz, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 9,05 (s a, 1 H); HPLC Tr = 2,88 min, MS (ESI): 263,9, 265,9 [M+H]<sup>+</sup>.

## Intermedio 3

## 2-[(5-Cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzonitrilo

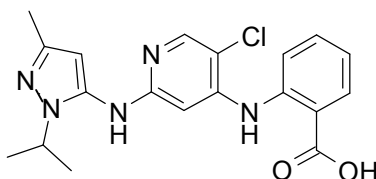


La solución de 2-[(2,5-dicloro-4-piridinil)amino]benzonitrilo (110 g, 396 mmol), 3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-amina (55,1 g, 396 mmol) y carbonato de cesio (387 g, 1187 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 l) se desgasificó con una corriente de N<sub>2</sub> y se añadió 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (BINAP) (19,71 g, 31,7 mmol) seguido de acetato de paladio (3,55 g, 15,83 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche en una atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se filtró y el líquido se concentró. Se añadió acetato de etilo (1500 ml) seguido de HCl 1 M (1000 ml). Las capas se separaron. El acetato de etilo se lavó con HCl 1 M hasta que no se observó producto por HPLC (1000 ml en total, 1 x). Las fases de HCl se combinaron y se lavaron de nuevo con acetato de etilo (3 x 1000 ml) hasta que el pico del producto era relativamente puro en la capa de HCl. Después, la capa de HCl se basificó con NaOH (50 p/p seguido de 1 M) a pH ~4 dando como resultado una solución turbia. Se añadió acetato de etilo (2000 ml) y las capas se separaron. El acetato de etilo se lavó con salmuera y se evaporó. Después de la neutralización - tras la adición de acetato de etilo -, la mezcla de reacción se filtró para conseguir un poco de producto. Además, el aislamiento del producto durante la evaporación puede realizarse por filtración del sólido de color blanco, que procede de las aguas madre. Todos los sólidos y productos evaporados se combinaron. Se aisló 2-[[5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzonitrilo (80 g, 207 mmol, rendimiento de 52,4%) en forma de un sólido de color amarillo. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,24 (d, J = 6,57 Hz, 6 H) 2,08 (s, 3 H) 4,34 (quintuplete, J = 6,57 Hz, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 5,97 (s, 1 H) 7,41 (td, J = 7,58, 1,01 Hz, 1 H) 7,47 (d, J = 8,08 Hz, 1 H) 7,75 (td, J = 7,83, 1,52 Hz, 1 H) 7,90 (dd, J = 7,83, 1,52 Hz, 1 H) 7,94 (s, 1 H) 8,42 (d, J = 17,43 Hz, 2 H); HPLC Tr = 2,36 min, MS (ESI): [M+H]<sup>+</sup> = 367,1, 368,1.

40

## Intermedio 4

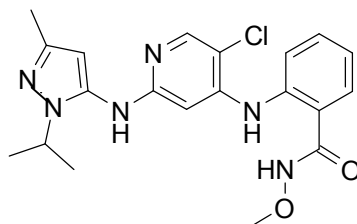
Ácido 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzoico



5 Se disolvió 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzonitrilo (80 g, 218 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 l) y se añadió NaOH 1 M (1500 ml, 1500 mmol). La suspensión se calentó a reflujo durante una noche. Después de enfriar a TA, se añadió acetato de etilo (1 l) y las capas se separaron. La capa de agua se lavó con 1 l de acetato de etilo. Las dos capas orgánicas se combinaron y se lavaron de nuevo con NaOH 0,1 M (1 l) hasta que no se observó más cantidad de producto en la capa orgánica. Después, los productos orgánicos se desecharon. Después, los productos acuosos combinados se lavaron con 1 l de acetato de etilo. Después, la capa de agua se acidificó con ácido acético (muy lentamente a pH ~ 7). El sólido se filtró y se aisló ácido 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzoico (67 g, 165 mmol, rendimiento de 76%) en forma de un sólido de color amarillo. 1H RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,28 (d, J = 6,57 Hz, 6 H) 2,11 (s, 3 H) 4,41 (quintuplete, J = 6,57 Hz, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,83 (s, 1 H) 7,09 (ddd, J = 8,02, 5,12, 3,03 Hz, 1 H) 7,40 (1 H) 7,52 - 7,61 (m, 2 H) 7,91 - 8,16 (m, 2 H) 8,55 (s, 1 H) 10,17 (s a, 1 H) 13,64 (s a, 1 H); HPLC Tr = 2,35 min, MS (ESI): [M+H]<sup>+</sup> = 386,1.

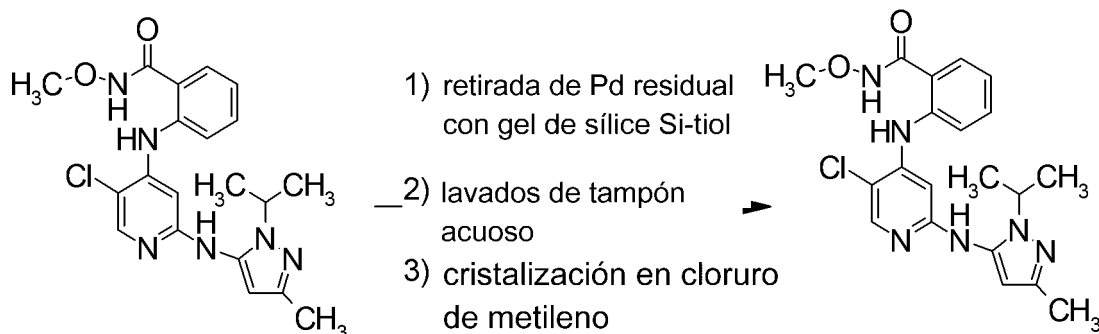
## Ejemplo 1b

2-[(5-Cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida



20 A una solución de ácido 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]benzoico (67 g, 174 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (29,3 g, 191 mmol) en N,N-dimetilformamida (700 ml) se le añadió N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (36,6 g, 191 mmol) y la solución se agitó durante 30 minutos. Se añadió hidrocloreto de O-metilhidroxilamina (15,95 g, 191 mmol) y la solución se agitó durante 15 minutos más, después la solución se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota diisopropiletilamina (91 ml, 521 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió agua (4000 ml) y la solución se acidificó con ácido acético (20 ml). La solución se extrajo con 2 x 2 l de acetato de etilo. El producto orgánico se lavó con agua (1 l) y salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó. Se aisló 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (74 g, 164 mmol, rendimiento de 94%, pureza de 92%) en forma de una espuma de color amarillo. 1H RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,27 (d, J = 6,57 Hz, 6 H) 2,10 (s, 3 H) 3,71 (s, 3 H) 4,39 (quintuplete, J = 6,51 Hz, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 7,08 - 7,19 (m, 1 H) 7,49 - 7,64 (m, 3 H) 7,98 (s, 1 H) 8,50 (s, 1 H) 9,50 (s, 1 H) 11,93 (s, 1 H).; HPLC Tr = 2,13 min, MS (ESI): [M+H]<sup>+</sup> = 415,1.

Purificación de los Productos del Ejemplo 1a y 1b



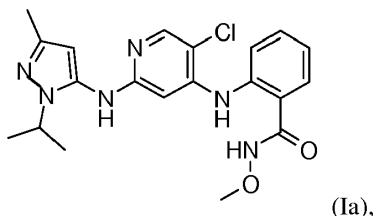
Se disolvió 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (173,3 g, 63,5% de p/p, 265,2 mmol) en acetato de etilo (3,50 l, 20 volúmenes) y se calentó a aproximadamente 50°C. A esta solución se le añadió Si-tiol (gel de sílice funcionalizado) (87 g, carga al 50%). La mezcla se mantuvo a aproximadamente 50°C durante 16-20 horas. Después, el gel de sílice Si-tiol se retiró por filtración. La torta de filtro se aclaró con acetato de etilo (2 x 200 ml cada una) y los filtrados se combinaron. Después, los filtrados combinados se lavaron con formato de amonio acuoso 1 M a pH 9,4 (5 x 1 l cada uno), se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. El EtOAc seco se filtró y se extrajo a sequedad, dando una espuma de color amarillo. Se secó a 50-55°C durante aproximadamente 2 horas hasta alcanzar un peso constante de 160 g. Este material se suspendió en cloruro de metileno (800 ml, 5 volúmenes), se calentó a reflujo para producir una solución y se filtró. La solución se enfrió a 20-25°C. El producto cristalizó después de la refrigeración. Después de aproximadamente 2 horas, el producto se recogió por filtración y se aclaró con cloruro de metileno. El sólido de color blanco se secó a 50-55°C durante 14-16 horas hasta alcanzar un peso constante. Se aisló 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (85,0 g, 204,9 mmol, rendimiento global del 77%) en forma de un sólido de color blanco. 1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,27 (d, J = 6,57 Hz, 6 H) 2,10 (s, 3 H) 3,70 (s, 3 H) 4,39 (quintuplete, J = 6,57 Hz, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 7,02-7,24 (m, 1 H) 7,45-7,68 (m, 3 H) 7,98 (s, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 9,49 (s a, (s a, 1 H) 11,91 (s, 1 H). Tr de HPLC C18 = 6,2 minutos (pureza de 99,0%). MS (ESI): 415,0 [M+H]<sup>+</sup>.



Se suspendió 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida (235,2 g de peso total, 228,0 g de contenido ensayado, 549,5 mmol) en acetato de etilo (7,1 l, 30 volúmenes). La mezcla se calentó a aproximadamente 50-55°C para producir una solución turbia. La solución turbia se filtró. A la solución filtrada se le añadió HCl 2,0 M en éter dietílico (210 g, 281 ml, 1,02 equiv.) durante 15-20 minutos. Después de la adición de HCl, se observó una suspensión de color blanco. Se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 16-20 horas. El producto se recogió por filtración y se aclaró con acetato de etilo (2 x 500 ml cada uno). La torta húmeda se secó a 50-55°C/<5 mm de Hg durante 16-20 horas hasta alcanzar un peso constante. Se aisló 2-[(5-cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1H-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil)amino]-N-(metiloxi)benzamida, monohidrocloruro, (245,9 g, 544,7 mmol, rendimiento de 96%) en forma de un sólido de color blanco. 1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,32 (d, J = 6,57 Hz, 6 H) 2,18 (s, 3 H) 3,70 (s, 3 H) 4,35-4,62 (m, 1 H) 6,12 (s a, (s a, 1 H) 6,60 (s a, (s a, 1 H) 7,19-7,41 (m, 1 H) 7,48-7,75 (m, 3 H) 8,09 (s, 1 H) 9,59-9,99 (m, 2 H) 11,98 (s a, (s a, 1 H). HPLC C18 Tr = 6,1 minutos (pureza de 99,6%). MS (ESI): 414,8 [M+H]<sup>+</sup>.

## REIVINDICACIONES

1. 2-([5-Cloro-2-[[3-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-pirazol-5-il]amino]-4-piridinil]amino)-*N*-(metiloxi)benzamida, que es un compuesto de fórmula (Ia)



- 5 o una sal del mismo.
2. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (Ia) que se ha definido en la reivindicación 1.
3. El compuesto de fórmula (Ia) que se ha definido en la reivindicación 1.
4. La sal monohidrocloruro del compuesto de fórmula (Ia) que se ha definido en la reivindicación 1,
- 10 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. Un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en terapia.
- 15 7. Un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en el tratamiento de cáncer.
8. El uso de un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de cancer.
9. Una combinación de (a) un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y (b) al menos un agente anti-neoplásico.
- 20 10. Una combinación según la reivindicación 9, en donde el agente anti-neoplásico es un inhibidor de serina/treonina quinasas.
11. Una combinación según la reivindicación 9 o la reivindicación 10 para uso en el tratamiento de cáncer.
12. El uso de una combinación según la reivindicación 9 o la reivindicación 10 en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de cáncer.
- 25 13. Un compuesto para uso según la reivindicación 7, o una combinación para uso según la reivindicación 11, o un uso según la reivindicación 8 o la reivindicación 12, en donde el cáncer es mesotelioma.
14. Un compuesto para uso según la reivindicación 7, o una combinación para uso según la reivindicación 11, o un uso según la reivindicación 8 o la reivindicación 12, en donde el cáncer es cáncer de ovario.
- 30 15. Un compuesto para uso según la reivindicación 7, o una combinación para uso según la reivindicación 11, o un uso según la reivindicación 8 o la reivindicación 12, en donde el cáncer es glioblastoma multiforme.