

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 684**

51 Int. Cl.:

A01N 43/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2009 E 09743378 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2282636**

54 Título: **Compuestos de tiazol y oxazol bencenosulfonamida**

30 Prioridad:

06.05.2008 US 50744

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

08.07.2016

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**ADAMS, JERRY, LEROY;
DICKERSON, SCOTT, HOWARD;
JOHNSON, NEIL, W.;
KUNTZ, KEVIN;
PETROV, KIMBERLY;
RALPH, JEFFREY, M.;
RHEAULT, TARA RENAE;
SCHAAF, GREGORY;
STELLWAGEN, JOHN;
TIAN, XINRONG;
UEHLING, DAVID EDWARD;
WATERSON, ALEX GREGORY;
WILSON, BRIAN;
ADJABENG, GEORGE y
HORNBERGER, KEITH**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 576 684 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

Compuestos de tiazol y oxazol bencenosulfonamida

Campo de la invención

5 La presente invención se relaciona con un compuesto de tiazol benceno sulfonamida, composiciones que contienen el mismo, así como también procesos para la preparación y métodos para utilizar dicho compuesto y composiciones.

Antecedentes de la invención

10 Ambos receptores tirosina quinasa y serina/treonina quinasa se han implicado en las rutas de señalización celular que controlan la función, división, crecimiento, diferenciación, y muerte celular (apoptosis) a través de la fosforilación reversible de los grupos hidroxilo de residuos de tirosina o serina y treonina, respectivamente, en las proteínas. En la transducción de señal, por ejemplo, las señales extracelulares se transducen a través de la activación del receptor de membrana, con amplificación y propagación utilizando una coreografía compleja de las cascadas de fosforilación de proteínas, y eventos de desfosforilación de proteínas para evitar la señalización no controlada. Estas rutas de señalización se regulan altamente, a menudo mediante rutas de quinasa interconectadas y complejas donde cada quinasa puede en sí misma ser regulada por una o más quinasas y fosfatasa de proteínas. La importancia biológica de estos sistemas finamente sintonizados es tal que una variedad de trastornos proliferativos celulares se han relacionado con defectos en una o más de las diversas rutas de señalización celular mediadas por tirosina o serina/treonina quinasas.

Las tirosina quinasas receptoras (RTK) catalizan la fosforilación de ciertos residuos de aminoácido tirosil en diversas proteínas, que incluyen a sí mismas, que rigen el crecimiento, proliferación y diferenciación celular.

20 En dirección 3' de las diversas RTK se encuentran varias rutas de señalización, entre ellas está la ruta de Ras-Raf-MEK-ERK quinasa. Actualmente se entiende que la activación de las proteínas Ras GTPasa en respuesta a factores de crecimiento, hormonas, citoquinas, etc. estimula la fosforilación y activación de quinasas Raf. Estas quinasas luego fosforilan y activan la proteína intracelular quinasas MEK1 y MEK2, que a su vez fosforilan y activan otras proteínas quinasas, ERK1 y 2. Esta ruta de señalización, también conocida como la ruta de proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) o cascada citoplasmática, media las respuestas celulares a señales de crecimiento. La última función de ésta es vincular la actividad del receptor en la membrana celular con la modificación de objetivos citoplasmáticos o nucleares que regulan la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. Se ha identificado que las mutaciones de diversas Ras GTPasas y la quinasa B-Raf pueden conducir a la activación sostenida y constitutiva de la ruta MAPK, lo que en última instancia resulta en un aumento de la división y supervivencia celular. Como consecuencia de esto, estas mutaciones se han ligado fuertemente a la creación, desarrollo y progresión de un amplio rango de cánceres humanos. La función biológica de las quinasas Raf, y específicamente aquella de B-Raf, en la transducción de señal se describe en Davies, H., et al., *Nature* (2002) 9:1-6; Garnett, M.J. & Marais, R., *Cancer Cell* (2004) 6:313-319; Zebisch, A. & Troppmair, J., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006) 63:1314-1330; Midgley, R.S. & Kerr, D.J., *Crit. Rev. Onc/Hematol.* (2002) 44:109-120; Smith, R.A., et al., *Curr. Top. Med. Chem.* (2006) 6:1071-1089; and Downward, J., *Nat. Rev. Cancer* (2003) 3:11-22.

Las mutaciones de origen natural de la quinasa B-Raf que activan la señalización de la ruta MAPK se han encontrado en un gran porcentaje de melanomas humanos (Davies (2002) supra) y de cánceres de tiroides (Cohen et al *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 and Kimura et al *Cancer Res.* (2003) 63(7) 1454-1457), así como en menores frecuencias, pero todavía significativas, en los siguientes:

40 adenocarcinoma de Barret (Garnett et al., *Cancer Cell* (2004) 6 313-319 and Sommerer et al *Oncogene* (2004) 23(2) 554-558),

carcinomas del tracto biliar (Zebisch et al., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006) 63 1314-1330),

cáncer de mama (Davies (2002) supra),

cáncer de cuello uterino (Moreno-Bueno et al *Clin. Cancer Res.* (2006) 12 (12) 3865-3866),

45 colangiocarcinoma (Tannapfel et al *Gut* (2003) 52 (5) 706 -712),

tumores del sistema nervioso central, que incluyen tumores primarios del SNC tales como glioblastomas, astrocitomas y ependimomas (Knobbe et al *Acta Neuropathol. (Berl.)* (2004) 108 (6) 467-470, Davies (2002) supra, y Garnett et al., *Cancer Cell* (2004) supra) y tumores secundarios del SNC (es decir, metástasis al sistema nervioso central de los tumores que se originan fuera del sistema nervioso central),

cáncer colorrectal, que incluye carcinoma de colon de intestino grueso (Yuen et al Cancer Res. (2002) 62 (22) 6451-6455, Davies (2002) supra y Zebisch et al., Cell. Mol. Life Sci. (2006),

cáncer gástrico (Lee et al Oncogene (2003) 22 (44) 6942-6945),

5 carcinoma de cabeza y cuello, que incluye carcinoma de células epidermoides de cabeza y cuello (Cohen et al J. Nat. Cancer Inst. (2003) 95 (8) 625-627 y Weber et al Oncogene (2003) 22 (30) 4757 -4759),

10 cánceres hematológicos que incluyen leucemias (Garnett et al., Cancer Cell (2004) supra, particularmente leucemia linfoblástica aguda (Garnett et al., Cancer Cell (2004) supra y Gustafsson et al Leucemia (2005) 19 (2) 310-312), leucemia mielógena aguda (AML) (Lee et al Leucemia (2004) 18 (1) 170-172, y Christiansen et al Leucemia (2005) 19 (12) 2232-2240), síndromes mielodisplásicos (Christiansen et al Leucemia (2005) supra) y leucemia mielógena crónica (Mizuchi et al Biochem. Biophys. Res. Commun. (2005) 326 (3) 645-651); linfoma de Hodgkin (Figl et al Arch. Dermatol. (2007) 143(4) 495-499), linfoma no Hodgkin (Lee et al Br. J. Cancer (2003) 89(10) 1958-1960), leucemia megacarioblástica (Eychene et al Oncogene (1995) 10 (6) 1159-1165) y mieloma múltiple (Ng et al Br. J. Haematol. (2003) 123 (4) 637-645),

carcinoma hepatocelular (Garnett et al., Cancer Cell (2004),

15 cáncer de pulmón (Brose et al Cancer Res. (2002) 62 (23) 6.997-7.000, Cohen et al J. Nat. Cancer Inst. (2003) supra y Davies (2002) supra), que incluye cáncer de pulmón de células microcíticas (Pardo et al EMBO J. (2006) 25 (13) 3078-3088) y cáncer de pulmón de células no microcíticas (Davies (2002) supra),

cáncer de ovario (Russell y McCluggage J. Pathol. (2004) 203 (2) 617-619 y Davies (2002) supra), cáncer endometrial (Garnett et al., Cancer Cell (2004) supra, y Moreno-Bueno et al Clin. Cancer Res. (2006) supra),

20 cáncer pancreático (Ishimura et al Cancer Lett. (2003) 199 (2) 169-173),

adenoma de pituitaria (De Martino et al J. Endocrinol. Invest. (2007) 30 (1) RC1-3),

cáncer de próstata (Cho et al Int. J. Cancer (2006) 119 (8) 1858-1862),

cáncer renal (Nagy et al Int. J. Cancer (2003) 106 (6) 980-981),

sarcoma (Davies (2002) supra), y

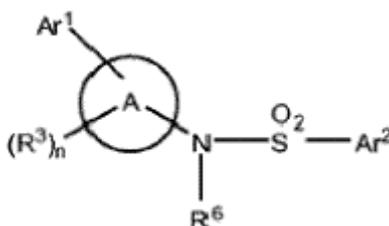
25 cánceres de piel (Rodríguez-Viciano et al Science (2006) 311 (5765) 1287-1290 y Davies (2002) supra).

La sobreexpresión de c-Raf se ha vinculado con AML (Zebisch et al., Cancer Res. (2006) 66 (7) 3401-3408, y Zebisch (Cell. Mol. Life Sci. (2006)) y eritroleucemia (Zebisch et la., Cell. Mol. Life Sci. (2006).

30 En virtud de la función desempeñada por las quinasas de la familia Raf en estos cánceres y los estudios exploratorios con un rango de agentes preclínicos y terapéuticos, que incluyen uno dirigido selectivamente a inhibición de la actividad de quinasa B-Raf (King A.J., et al., (2006) Cancer Res. 66:11100-11105), en general se acepta que los inhibidores de una o más quinasas de la familia Raf serán útiles para el tratamiento de dichos cánceres u otra afección asociada con la quinasa Raf.

35 También se ha implicado la mutación de B-Raf en otras afecciones, que incluyen síndrome cutáneo cardio-facio (Rodríguez-Viciano et al Science (2006) 311 (5765) 1287-1290) y enfermedad renal poliquística (Nagao et al Kidney Int. (2003) 63 (2) 427-437).

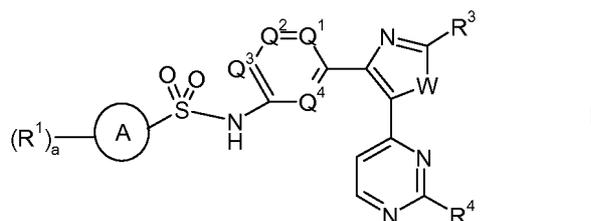
El documento WO2008/022286 describe compuestos de la fórmula



5 en la que A se selecciona del grupo que consiste de arilo y heteroarilo; Ar¹ y Ar² se seleccionan independientemente del grupo que consiste de arilo, arilo sustituido, heteroarilo, y heteroarilo sustituido; R³ se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, halo, amino, amino sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, sulfonilo sustituido, sulfinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, y heteroarilo sustituido; R⁶ se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, y heteroarilo sustituido; n es un entero desde 0 hasta 3; o su tautómero y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con la condición que A no es 1,3-tiazol-2-ilo. Se enseña que estos compuestos son inhibidores de quinurenina-3-monooxigenasa.

Resumen de la invención

10 Se describen aquí compuestos de la fórmula (I):



en donde:

a es 0, 1, 2 o 3;

15 cada R¹ es el mismo o diferente y se selecciona independientemente de halo, alquilo, haloalquilo, -OR⁶, -CO₂R⁶, -NR⁶R⁷, y -CN;

El anillo A se selecciona de cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, heterociclo de 5 a 6 miembros y heteroarilo de 5 a 6 miembros, dicho heterociclo y dicho heteroarilo cada uno tiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N, O y S;

cada uno de Q¹, Q², Q³ y Q⁴ es CH, C-R² o N, en donde no más de uno de Q¹, Q², Q³, y Q⁴ es N;

cada R² es el mismo o diferente y se selecciona independientemente de halo, alquilo, haloalquilo, y -OR⁶;

20 W se selecciona de -O- y -S-;

R³ se selecciona de H, alquilo, haloalquil-, -alquilen-OH, -NR⁶R⁷, -cicloalquilo C₃₋₆, -alquilen-C(O)-OH, -alquilen-NH₂, y Het;

25 en donde dicho R³ cicloalquilo C₃₋₆ se sustituye opcionalmente con 1 o 2 sustituyentes que son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₃, OH, O-alquilo C₁₋₃, oxo, S(alquilo C₁₋₃), SO₂, NH₂, N(H)alquilo C₁₋₃ y N(alquilo C₁₋₃)₂;

Het es un heterociclo de 5 a 6 miembros que tiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N, O y S y opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes que son los mismos o diferentes y cada uno se seleccionan independientemente de halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₃, O-alquilo C₁₋₃, alquilen C₁₋₃-O-alquilo C₁₋₃, OH, alquilen C₁₋₃-OH, oxo, SO₂(alquilo C₁₋₃), alquilen C₁₋₃-SO₂(alquilo C₁₋₃), NH₂, N(H)alquilo C₁₋₃, N(alquilo C₁₋₃)₂, CN, y -CH₂CN;

30 R⁴ se selecciona de H, alquilo, haloalquilo, alquilenilo, -OR⁶, -R⁵-OR⁶, -R⁵-CO₂R⁶, -R⁵-SO₂R⁶, -R⁵-Het, -R⁵-C(O)-Het, -N(H)R⁸, -N(CH₃)R⁸, y -R⁵-NR⁶R⁷; cada R⁵ es el mismo o diferente y es independientemente alquilen C₁₋₄;

cada R⁶ y cada R⁷ es el mismo o diferente y se selecciona independientemente de H, alquilo, haloalquilo, -C(O)-alquilo, y -C(O)-cicloalquilo;

35 R⁸ se selecciona de H, alquilo (opcionalmente sustituido por -OH), haloalquilo, cicloalquilo C₃₋₆, -R⁵-cicloalquilo C₃₋₆, Het², -R⁵-Het², -R⁵-OR⁶, -R⁵-O-R⁵-OR⁶, -R⁵-C(O)₂R⁶, -R⁵-C(O)NR⁶R⁷, -R⁵-N(H)C(O)-R⁶, -R⁵-N(H)C(O)-R⁵-OR⁶, -R⁵-N(H)C(O)₂-R⁶, -R⁵-NR⁶R⁷, -R⁵-S(O)₂R⁶, -R⁵-CN, y -R⁵-N(H)S(O)₂R⁶;

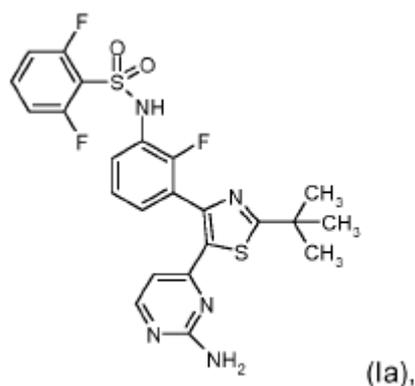
en donde dicho R⁸ cicloalquilo C₃₋₆ se sustituye opcionalmente con 1 o 2 sustituyentes que son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₃, OH, O-alquilo C₁₋₃, oxo, S(alquilo C₁₋₃), SO₂(alquilo C₁₋₃), NH₂, N(H)alquilo C₁₋₃ y N(alquilo C₁₋₃)₂, y N(H)SO₂alquilo C₁₋₃; y

Het² es un heterociclo de 4 a 6 miembros que tiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N, O y S y opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 alquilo C₁₋₃ o 1 o 2 sustituyentes que son los mismos o diferentes y cada uno se seleccionan independientemente de halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₃, O-alquilo C₁₋₃, alquileno C₁₋₃-O-alquilo C₁₋₃, OH, alquileno C₁₋₃-OH, oxo, SO₂(alquilo C₁₋₃), alquileno C₁₋₃-SO₂(alquilo C₁₋₃), NH₂, N(H)alquilo C₁₋₃, N(alquilo C₁₋₃)₂, N(H)SO₂alquilo C₁₋₃, C(O)(alquilo C₁₋₃), CO₂(alquilo C₁₋₃), CN, y -CH₂CN; y

R⁹ y R¹⁰ se seleccionan independientemente de H y alquilo,

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

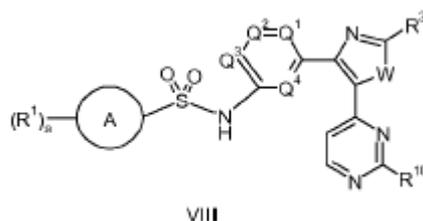
En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (Ia)



10 N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} -2,6-difluorobencenosulfonamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Particularmente la base libre del compuesto.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente uno o más de portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

También se describe aquí un proceso para preparar un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VIII):



en donde R¹⁰ es halo o tiometilo;

20 con uno de:

i) hidrógeno molecular, o

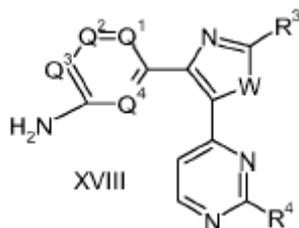
ii) un reactivo de metal alquilo o reactivo de metal alqueniilo, o

iii) un alcohol, o

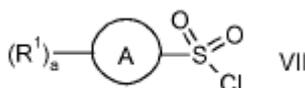
iv) un compuesto de la fórmula (IX): N(R^a)-R⁸, en donde R^a es H o CH₃ y R⁸ es como se definió anteriormente;

25 para preparar un compuesto de la fórmula (I).

También se describe aquí un proceso para preparar un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (XVIII):



con un compuesto de la fórmula (VII):



5

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de un neoplasma susceptible (por ejemplo, adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides) en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

10

15

20

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de cáncer de mama, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de célula no microcítica, cáncer de ovario, o cáncer de tiroides en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

En un otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de un neoplasma susceptible (por ejemplo, adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides) en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

25

30

35

En un otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de cáncer de mama, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de célula no microcítica, cáncer de ovario, o cáncer de tiroides en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

40

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de un

neoplasma susceptible (por ejemplo, adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides) en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de célula no microcítica, cáncer de ovario, o cáncer de tiroides en un mamífero (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo.

Estos y otros aspectos de la invención se describen adicionalmente en la Descripción Detallada y Ejemplos que siguen.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un Patrón de Difracción en Polvo de Rayos X de una forma de estado sólido particular de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida. El patrón XRD se expresa en términos de 2 ángulos teta y obtenidos con un difractómetro PANanalítico equipado con un filtro de níquel de rayo difractado que utiliza radiación X K α de cobre, de acuerdo con los procedimientos descritos aquí.

La Figura 2 es un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de una forma de estado sólido particular N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida. El DSC se lleva a cabo sobre un sistema TA Instruments DSC Q100 a un índice de calor de 10° C por minuto, utilizando un tamaño de muestra de 0.4-1.5 mg, de acuerdo con los procedimientos descritos aquí.

Descripción detallada de la invención

Como se utiliza aquí, el término “quinasa de la familia Raf” se refiere a quinasas Raf que incluyen A-Raf, B-Raf y c-Raf (también conocidas como Raf-1). A menos que se distinga aquí, el término se refiere a variaciones del tipo natural y mutante de las mismas.

Como se utiliza aquí, “compuesto(s) de la fórmula (I)” significa cualquier compuesto que tiene la fórmula estructural (I) según se define por las definiciones variables proporcionadas, posibles solvatos, que incluyen hidratos de los mismos, y formas amorfas y cristalinas, que incluyen una o más formas polimórficas y mezclas de las mismas. En el caso de compuestos de fórmula (I) que poseen uno o más centros quirales, los compuestos pueden estar en forma de una mezcla racémica, o uno o más estereoisómeros isoméricamente enriquecidos o puros, que incluyen enantiómeros y diastereómeros de los mismos. En dichas realizaciones, el “compuesto (s) de fórmula (I)” incluye la forma racémica así como los enantiómeros y diastereómeros enriquecidos o puros. Los compuestos enantioméricamente enriquecidos o puros se designaran utilizando la nomenclatura convencional, que incluye las designaciones +, -, R, S, d, l, D y L, de acuerdo con el isómero predominante presente. Cuando un compuesto de la invención contiene un grupo alquilo o alquileno, también puede ocurrir el isomerismo cis (E) y trans (Z). En dichas realizaciones, “compuesto (s) de fórmula (I)” incluye los estereoisómeros individuales del compuesto de la invención, que se indicará utilizando nomenclatura cis/trans convencional. También se debe entender que los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas tautoméricas diferentes a las mostradas en la fórmula y formas tautoméricas alternativas también se incluyen dentro del “compuesto (s) de fórmula (I)”.

Como se utiliza aquí, “compuesto (s) de la invención” significa un compuesto de fórmula (Ia) (como se definió anteriormente) en cualquier versión, es decir, como la base libre o como una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto como cualquier versión puede estar en cualquier forma, que incluye formas amorfas o cristalinas, formas polimórficas específicas, solvatos, que incluyen hidratos (por ejemplo, mono-, di- y hemihidratos), y mezclas de diversas formas.

Los intermedios también pueden estar presentes como sales. Por lo tanto, en referencia a los intermedios, la frase “compuesto (s) de fórmula (número)” significa un compuesto que tiene esa fórmula estructural o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- El término "alquilo" como se utiliza aquí se refiere a cadenas de hidrocarburo lineal o ramificada que tienen desde 1 a 8 átomos de carbono, a menos que se especifique un número de átomos diferentes. Ejemplos de "alquilo" como se utilizan aquí incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, n-pentilo, sec-butilo, isobutilo, y tert-butilo. Se entiende que el término "alquilo" y variaciones del mismo (es decir, "alquilo C₁₋₄") describen independientemente cada miembro del género.
- 5 El término "alquileo" se refiere a cadenas de hidrocarburo divalente lineal o ramificada que contienen desde 1 a 8 átomos de carbono, a menos que se especifique un número de átomos diferentes. Ejemplos de "alquileo" como se utiliza aquí incluyen, pero no se limitan a, metileno, etileno, propileno, butileno, y isobutileno. Se pretende que el término "alquileo" y variaciones del mismo (es decir, "alquileo C₁₋₃") describa independientemente cada miembro del género.
- 10 Como se utiliza aquí, el término "alqueno" se refiere a cadenas de hidrocarburo lineal o ramificada que tienen desde 2 hasta 8 átomos de carbono, a menos que se especifique un número de átomos diferentes, y por lo menos uno y hasta tres enlaces dobles carbono-carbono. Ejemplos de "alqueno" como se utiliza aquí incluyen, pero no se limitan a, etenilo y propenilo. Se pretende que el término "alqueno" y variaciones del mismo (es decir, "alqueno C₂₋₄") describa independientemente cada miembro del género.
- 15 Como se utiliza aquí, el término "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico saturado que tiene desde 3 hasta 8 átomos de carbono, a menos que se especifique un número de átomos diferentes. "Cicloalquilo" incluye por vía de ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los grupos cicloalquilo preferidos incluyen cicloalquilo C₃₋₆ sustituido y no sustituido. Se pretende que el término "cicloalquilo" y variaciones del mismo (es decir, "cicloalquilo C₃₋₆") describa independientemente cada miembro del género.
- 20 Los términos "halo" y "halógeno" son sinónimos y se refieren a fluro, cloro, bromo y yodo. En realizaciones particulares, "halo" se refiere a fluro y cloro.
- Como se utiliza aquí, "haloalquilo" se refiere a un alquilo, como se definió anteriormente, sustituido por uno o más átomos de halógeno, fluro, cloro, bromo o yodo. Donde el grupo haloalquilo tiene menos de 8 átomos de carbono, el número de átomos de carbono en el grupo se indica como, por ejemplo, "haloalquilo C₁₋₃", que indica que el grupo haloalquilo tiene 1, 2 o 3 átomos de carbono. Ejemplos de haloalquilo como se utiliza aquí incluyen, pero no se limitan a, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, fluoroetilo, trifluoroetilo, y similares. Se pretende que el término "haloalquilo" y variaciones del mismo (es decir, "haloalquilo C₁₋₃") describa independientemente cada miembro del género.
- 25 El término "oxo" como se utiliza aquí se refiere a el grupo =O adherido directamente a un átomo de carbono de un anillo de hidrocarburo (por ejemplo, cicloalquilo o cicloalqueno) o un C, N o S de un anillo heterocíclico o heteroarilo para resultar en óxidos, N-óxidos, sulfonas y sulfóxidos.
- 30 Como se utiliza aquí, los términos "heterociclo" y "heterocíclico" son sinónimos y se refieren a grupos no aromáticos saturados o insaturados monocíclicos, que tienen desde 4 hasta 6 miembros (a menos que se especifique un número de miembros diferente) y que incluyen 1, 2, o 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, a menos que se especifique un número de heteroátomos diferente. En todas las realizaciones en donde el heterociclo incluye 2 o más heteroátomos, los heteroátomos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de N, O y S. En todas las realizaciones en donde el compuesto de la fórmula (I) incluye dos o más grupos heterocíclicos, los grupos heterocíclicos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente. Ejemplos de grupos heterocíclicos particulares incluyen pero no se limitan a, tetrahidrofurano, dihidropirano, tetrahidropirano, pirano, tietano, 1,4-dioxano, 1,3-dioxano, 1,3-dioxalano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, tiomorfolina, tiazolidina, oxazolidina, tetrahidrotiopirano, tetrahidrotiofeno y similares. Se entiende que el término "heterociclo" y variaciones del mismo (es decir, "N-heterociclo") describa independientemente cada miembro del género.
- 35 Como se utiliza aquí, el término "N-heterociclo" se refiere a grupos no aromáticos saturados o insaturados monocíclicos que tienen desde 4 hasta 6 miembros, que incluyen por lo menos un N y opcionalmente 1 o 2 heteroátomos seleccionados adicionales de N, O y S, a menos que se especifique un número diferente de heteroátomos adicionales. Por "heteroátomos adicionales" significa 1 o 2 heteroátomos además del N ya especificado en el anillo N-heterociclo. En todas las realizaciones en donde el heterociclo incluye 1 o más heteroátomos adicionales, los heteroátomos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de N, O y S. Los N-heterociclos incluyen ambos grupos unidos a través del N del N-heterociclo y grupos unidos a través de un C o S del N-heterociclo. En todas las realizaciones en donde el compuesto de la fórmula (I) incluye dos o más grupos N-heterocíclicos, los grupos N-heterocíclicos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente. Ejemplos de N-heterociclos incluyen piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, tiomorfolina y similares.
- 40 Como se utiliza aquí, el término "heteroarilo" se refiere a grupos monocíclicos aromáticos que tienen 5 o 6 miembros (a menos que se especifique un número de miembros diferente) que incluye 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, a menos que se especifique un número de heteroátomos diferente. En todas las realizaciones en donde el
- 45
- 50
- 55

heteroarilo incluye 2 o más heteroátomos, los heteroátomos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de N, O y S. En todas las realizaciones en donde el compuesto de la fórmula (I) incluye dos o más grupos heteroarilo, los grupos heteroarilo pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente. Ejemplos de grupos heteroarilo particulares incluyen pero no se limitan a furano, tiofeno, pirrol, imidazol, pirazol, triazol, tetrazol, tiazol, oxazol, isoxazol, oxadiazol, tiadiazol, isotiazol, piridina, piridazina, pirazina, pirimidina, y triazina. Se entiende que el término "heteroarilo" y variaciones del mismo (es decir, "N-heteroarilo") describe independientemente cada miembro del género.

Como se utiliza aquí, el término "N-heteroarilo" se refiere a grupos monocíclicos aromáticos que tienen 5 o 6 miembros (a menos que se especifique un número de miembros diferente) que incluyen por lo menos un N y opcionalmente 1 o 2 heteroátomos seleccionados adicionales de N, O y S, a menos que se especifique un número de heteroátomos diferente. Por "heteroátomos adicionales" se entiende 1 o 2 heteroátomos además del N ya especificado en el anillo N-heteroarilo. En todas las realizaciones en donde el heteroarilo incluye 1 o más heteroátomos adicionales, los heteroátomos pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de N, O y S. Los N-heteroarilos incluyen ambos grupos unidos a través del N del N-heteroarilo y grupos unidos a través de un C o S del N-heteroarilo. En todas las realizaciones en donde el compuesto de la fórmula (I) incluye dos o más grupos N-heteroarilo, los grupos N-heteroarilo pueden ser los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente. Ejemplos de N-heteroarilos incluyen pirrol, imidazol, pirazol, tiazol, isoxazol, piridina, piridazina, pirazina, pirimidina y triazina.

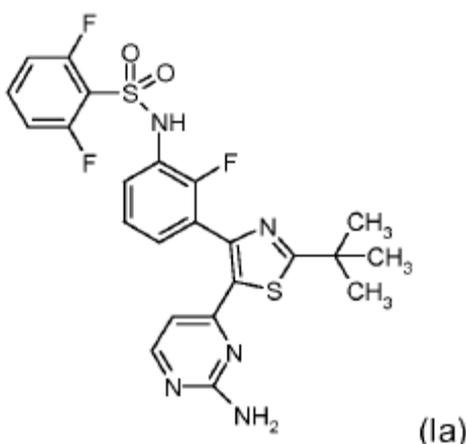
Como se utiliza aquí, el término "miembros" (y variantes del mismo por ejemplo, "con miembros") en el contexto de grupos de heterocíclico y heteroarilo se refieren a el número total de átomos en el anillo, que incluyen carbono y heteroátomos N, O y/o S. Por lo tanto, un ejemplo de un anillo heterocíclico de 6 miembros es piperidina y un ejemplo de un anillo heteroarilo de 6 miembros es piridina.

Como se utiliza aquí, el término "opcionalmente sustituido" significa grupos o anillos sustituidos (por ejemplo, grupos cicloalquilo, heterociclo, y heteroarilo) y anillos sustituidos con uno o más sustituyentes especificados.

A lo largo de esta descripción, una lista de alternativas, tales como aquellas proporcionadas anteriormente y adelante, tienen por objeto describir particularmente cada especie individualmente, así como los subgrupos de una o más especies dentro de la lista de alternativas (por ejemplo, "o subconjunto de las mismas").

Ejemplos específicos de los compuestos de la presente invención incluyen aquellos mencionados en los Ejemplos que siguen así como también sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos ejemplificados como la base libre y otras sales farmacéuticamente aceptables de aquellos compuestos ejemplificados como sales.

La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (Ia), N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida,



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, el compuesto es la base libre. En otra realización, el compuesto es una forma de sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionada de las formas de sal de mesilato, sulfato, clorhidrato y sodio del compuesto.

Se apreciará por aquellos expertos en la técnica que se pueden utilizar los compuestos de la fórmula (I) como una versión de sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) incluyen sales convencionales formadas de ácidos o bases orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables (es decir, no tóxicos) así como también sales de amonio cuaternario. Las sales

representativas incluyen las siguientes: acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, etanol amina, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicol-lilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato (metanosulfonato), metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, maleato de monopotasio, mucato, napsilato, nitrato, N-metilglucamina, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, potasio, salicilato, sodio, estearato, subacetato, succinato, tannato, tartrato, teocato, tosilato (metilbencenosulfonato), trietioduro, trimetilamonio y valerato. Otras sales, tales como oxálica y trifluoroacética, que no son en sí mismas farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles en la preparación de sales útiles como intermedios en obtener los compuestos de esta invención. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) está en la forma de la base libre. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) está en la forma de la sal de mesilato. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) está en la forma de la sal de sulfato. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) está en la forma de la sal de clorhidrato. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) está en la forma de la sal de sodio. Ciertas versiones de sal de los compuestos pueden ser solvatos, particularmente hidratos. En una realización, el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo está en la forma de un mono-, di-, tri- o hemi- hidrato.

Los procesos para preparar sales farmacéuticamente aceptables de compuestos tales como los compuestos de la fórmula (I) son convencionales en la técnica. Véase, por ejemplo, Burger's Medicinal Chemistry And Drug Discovery 5th Edición, Vol 1: Principles And Practice. Será evidente para aquellos expertos en la técnica, en los procesos descritos adelante para la preparación de compuestos de la fórmula (I), que ciertos intermedios, pueden estar en la forma de sales farmacéuticamente aceptables del compuesto. Los procesos para preparar sales farmacéuticamente aceptables de intermedios se conocen en la técnica y son análogos a los procesos para preparar sales farmacéuticamente aceptables de otros compuestos tales como los compuestos de la fórmula (I).

Se considera que los compuestos de la invención inhiben una o más quinasas y en particular una o más quinasas de la familia Raf ("inhibidor de Raf"). Los compuestos de la invención también pueden inhibir una o más de otras quinasas, y particularmente tirosina quinasas. Ciertos compuestos de la invención pueden inhibir B-Raf ("inhibidor de B-Raf"). Está bien documentado que los inhibidores de Raf, que incluyen inhibidores de B-Raf, se consideran útiles como agentes anticancerígenos y antitumorales. Véase, por ejemplo, Davies (2002) supra, Garnett (2004) supra, y Zebisch (2006) supra. Actualmente se considera que los efectos anticancerígenos y antitumorales de estos inhibidores de quinasa resultan de la inhibición de una o más quinasas de la familia Raf, y el efecto de dicha inhibición en las estirpes celulares cuyo crecimiento y/o viabilidad depende de la actividad quinasa de las quinasas de la familia Raf.

Los compuestos de la invención pueden ser inhibidores de Raf y opcionalmente también inhiben una o más quinasas de la familia ErbB (es decir, EGFR, ErbB2 y ErbB4). Ciertos compuestos de la invención pueden inhibir B-Raf y también inhiben una o más quinasas de la familia ErbB (es decir, EGFR, ErbB2 y Erb4).

Algunos compuestos de la invención pueden ser inhibidores selectivos de quinasas de la familia Raf ("inhibidor selectivo de Raf"), lo que significa que la inhibición preferencial de una o más quinasas de la familia Raf es significativamente mayor que aquella de cualquier número de otras quinasas, por ejemplo por un factor de 5 veces o más.

Sin embargo, la presente invención no se limita a compuestos que son inhibidores selectivos de una o más quinasas de la familia Raf más bien, la presente invención contempla expresamente que ciertos compuestos de la invención pueden poseer actividad contra múltiples quinasas, que incluyen quinasas diferentes a quinasas de la familia Raf. Por ejemplo, los compuestos particulares de la invención pueden poseer actividad contra múltiples otras quinasas, que incluyen pero no se limitan a EGFR, ErbB2, ErbB4, IGF-1R, IR, IRR, Src, VEGFR, PDGFR, Met, Lyn, Lck, Alk5, Aurora A y B, JNK, Syk, p38, BTK, FAK, Abl, CK1, cKit, receptores de Eferina (por ejemplo EphB4), FGFR, Flt, Fyn, Hck, JAK, MLK, PKCm, Ret, Yes, y también BRK. Los compuestos particulares de la invención se pueden considerar como selectivos o no selectivos, lo que significa que no se consideran por un experto en la técnica que son selectivos para cualquier quinasa particular, sobre las otras.

Como se utiliza aquí, un inhibidor de Raf es un compuesto que exhibe un pIC_{50} de más de aproximadamente 6 contra por lo menos una quinasa de la familia Raf en el ensayo de enzima de inhibición de Raf descrito adelante y/o un IC_{50} de no más de aproximadamente 5 μ M de potencia contra por lo menos una estirpe celular que expresa quinasa B-Raf mutada (por ejemplo, A375P, Colo205, HT-29, SK-MEL-3, SK-MEL-28) en azul de metileno y/o los ensayos de proliferación celular CellTiter-Glo descritos adelante. En una realización particular, un inhibidor de Raf se refiere a un compuesto de la invención que exhibe un pIC_{50} de más de aproximadamente 6.5 contra por lo menos una quinasa de la familia Raf en el ensayo de enzima de inhibición de Raf descrito adelante y un IC_{50} de no más de aproximadamente 500 nM de potencia contra por lo menos una estirpe celular que expresa quinasa B-Raf mutada en azul de metileno y/o los ensayos de proliferación celular CellTiter-Glo descritos adelante.

Un "inhibidor de B-Raf" se refiere a un compuesto de la invención que exhibe un plC_{50} de más de aproximadamente 6.5 contra B-Raf (que incluye mutantes B-Raf) en el ensayo de enzima de inhibición de Raf descrito adelante y un IC_{50} de no más de aproximadamente 500 nM de potencia contra por lo menos una estirpe celular que expresa quinasa B-Raf mutada en azul de metileno y/o el ensayo de proliferación celular CellTiter-Glo descrito adelante.

- 5 La presente invención proporciona compuestos para uso en terapia médica en un mamífero, por ejemplo, un humano, en necesidad del mismo. Se describen aquí métodos para el tratamiento de diversas afecciones en un mamífero, en necesidad del mismo, todas las cuales comprenden la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención. Todos los métodos descritos aquí son aplicables a mamíferos, y particularmente a humanos.
- 10 Como se utiliza aquí, el término "tratamiento" o "que trata" en el contexto de métodos terapéuticos, se refiere a aliviar la afección especificada, eliminar o reducir los síntomas de la afección, ralentizar o eliminar la progresión, invasión, o diseminación metastásica de la afección y prevenir o retardar la recurrencia de la afección en un sujeto afligido previamente. La presente invención proporciona adicionalmente el uso de los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diversas afecciones en un mamífero (por ejemplo, humano)
- 15 en necesidad del mismo.

Más particularmente, la presente invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de una afección mediada por al menos una quinasa de la familia Raf (por ejemplo, B-Raf) en un mamífero en necesidad del mismo.

- Los compuestos de la invención son para uso en regulación, modulación, unión o inhibición de una o más quinasas de la familia Raf (por ejemplo, B-Raf) en un mamífero, que incluye los métodos de regulación, modulación, unión o
- 20 inhibición de por lo menos una quinasa de la familia Raf (por ejemplo, B-Raf) al administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención. "Regular, modular, unir o inhibir por lo menos una quinasa de la familia Raf" se refiere a regulación, modulación, unión o inhibición de la actividad de por lo menos una quinasa de la familia Raf, así como también regulación, modulación, unión o inhibición de la sobreexpresión de un regulador en dirección 5' de por lo menos una quinasa de la familia Raf con el fin de inhibir la potencia celular de la capacidad de señalización.
- 25

- En una realización particular, la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de una afección mediada por actividad inapropiada de una o más quinasas de la familia Raf (por ejemplo, B-Raf), o un activador en dirección 5' de una o más quinasas de la familia Raf en un mamífero. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección mediada por actividad inapropiada de una o más quinasas de la familia Raf (particularmente B-Raf), en un mamífero. Un ejemplo de una afección mediada por actividad inapropiada de una o más quinasas de la familia Raf incluye neoplasmas.
- 30

- Por "actividad inapropiada" se entiende la actividad quinasa de la familia Raf que se desvía de la actividad esperada para esa quinasa o para un activador en dirección 5' de esa quinasa en un mamífero particular. La actividad inapropiada de una quinasa de la familia Raf puede surgir de una o más de A-Raf, B-Raf o c-Raf o un activador dirección 5' de una quinasa de la familia Raf. La actividad de quinasa de la familia Raf inapropiada puede tomar la forma de, por ejemplo, un aumento anormal de la actividad, o una aberración en tiempo y/o control de la actividad de quinasa de la familia Raf. Dicha actividad inapropiada puede resultar, por ejemplo, de la sobreexpresión o mutación de la quinasa, el activador en dirección 5', receptor o ligando que conduce a la activación inapropiada o incontrolada de la quinasa o receptor correspondiente. Adicionalmente, también se contempla que la actividad de quinasa de la familia Raf no deseada puede residir en una fuente anormal, tal como un neoplasma. Por lo tanto, el nivel de actividad de quinasa de la familia Raf no necesita ser anormal para considerarse inadecuado en el caso en el que la actividad se deriva de una fuente anormal, que incluye, pero no se limita a, activadores en dirección 5' (por ejemplo, GTPasas Ras activadas mutantes) o neoplasma. En un ejemplo de actividad inadecuada de quinasa de la familia Raf que no resulta de mutación o sobreexpresión de una quinasa de la familia Raf, la actividad inadecuada de una Ras GTPasa puede ser consecuencia de la mutación o sobreexpresión de Ras GTPasa, por ejemplo la mutación G13D en Kras2, y puede llevar a la sobreactivación de la ruta MAPK mediada por la actividad quinasa de la familia Raf.
- 35
- 40
- 45

- Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de una afección que resulta directa o indirectamente de una mutación de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de una quinasa de la familia Raf, o una mutación de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf en un mamífero en necesidad del mismo. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección que resulta directa o indirectamente de mutación de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de una quinasa de la familia Raf, o una mutación de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf en un mamífero. Las afecciones que son mediadas por al menos una quinasa de la familia Raf, y particularmente afecciones mediadas por actividad inapropiada de una o más quinasas de la familia Raf, que
- 50
- 55

incluyen aquellas que resultan directa o indirectamente de la mutación de una quinasa de la familia Raf, sobreexpresión de una quinasa de la familia Raf, o mutación de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf se conocen en la técnica e incluyen pero no se limitan un neoplasmas.

- 5 Los compuestos de la invención también se pueden utilizar en el tratamiento de afecciones atenuadas por inhibición de una quinasa de la familia Raf (particularmente B-Raf). También se proporciona el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección atenuada por la inhibición de una quinasa de la familia Raf (particularmente B-Raf) en un mamífero. Las afecciones atenuadas por inhibición de una quinasa de la familia Raf (que incluye B-Raf) incluyen pero no se limitan a neoplasmas.
- 10 Por consiguiente, se pueden utilizar los compuestos de la invención en el tratamiento de un neoplasma, particularmente un neoplasma susceptible (un cáncer o tumor) en un mamífero. La invención también proporciona el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de neoplasma, particularmente un neoplasma susceptible, en un mamífero.
- 15 “Neoplasma susceptible” como se utiliza aquí se refiere un neoplasmas que son susceptibles al tratamiento por un inhibidor de quinasa y particularmente neoplasmas que son susceptibles al tratamiento por un inhibidor de Raf. Los neoplasmas que se han asociado con actividad inapropiada de una o más quinasas de la familia Raf y particularmente neoplasmas que se exhiben en mutación de una quinasa de la familia Raf, sobreexpresión de una quinasa de la familia Raf, o mutación de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf o sobreexpresión de un activador en dirección 5' de una quinasa de la familia Raf, y por lo tanto son susceptibles al
- 20 tratamiento con un inhibidor de Raf se conocen en la técnica, e incluyen tumores primarios y metastásicos y cánceres. Véase, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC), the Wellcome Trust Sanger Institute, <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/> y aquellas referencias citadas en los antecedentes.

Ejemplos específicos de neoplasmas susceptibles dentro del alcance de la invención incluyen, pero no se limitan a:

- adenocarcinoma de Barret;
- 25 carcinomas del tracto biliar;
- cáncer de mama;
- cáncer de cuello uterino;
- colangiocarcinoma;
- 30 tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (que incluyen glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central),
- cáncer colorrectal, que incluye carcinoma de colon de intestino grueso;
- cáncer gástrico;
- carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello;
- 35 cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia;
- carcinoma hepatocelular;
- cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica;
- 40 cáncer de ovario;
- cáncer endometrial;
- cáncer pancreático;
- adenoma de pituitaria;

cáncer de próstata;

cáncer renal;

sarcoma;

cánceres de piel que incluyen melanomas; y

5 cánceres de tiroides.

Se pretende que la anterior lista describa cada uno de los neoplasmas mencionados individualmente. En una realización particular, el neoplasma susceptible es un neoplasma que exhibe una mutación en BRaf.

La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; 10
cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena 15
aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel 20
que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides, o cualquier subconjunto de las mismas, en un mamífero (por ejemplo, humano).

La presente invención proporciona adicionalmente el uso de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; 25
colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y 30
linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides, o 35
cualquier subconjunto de las mismas, en un mamífero (por ejemplo, humano).

Como se conoce bien en la técnica, los tumores pueden hacer metástasis a partir de un primer locus o locus primario de tumor a uno o más otros tejidos o sitios del cuerpo. En particular, las metástasis al sistema nervioso central (es decir, tumores del SNC secundarios), y particularmente del cerebro (es decir, metástasis cerebrales), están bien documentadas para tumores y cánceres, tales como de mama, pulmón, melanoma, renal y colorrectal. Como se 40
utiliza aquí, la referencia a usos o métodos para tratamiento o tratamientos para un "neoplasma", "tumor" o "cáncer" en un sujeto incluye el uso y tratamiento del neoplasma primario, tumor o cáncer, y cuando sea apropiado, también el uso y el tratamiento de metástasis (es decir, el crecimiento del tumor metastásico).

En otra realización, el neoplasma susceptible es cáncer colorrectal y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de cáncer colorrectal en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la 45
preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer colorrectal en un mamífero (por ejemplo, humano).

En otra realización, el neoplasma susceptible es melanoma, y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de melanoma en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de melanoma en un mamífero (por ejemplo, humano).

En otra realización, el neoplasma susceptible es colangiocarcinoma, y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de colangiocarcinoma en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de colangiocarcinoma en un mamífero (por ejemplo, humano). 50

En otra realización, el neoplasma susceptible es cáncer de tiroides, y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de cáncer de tiroides en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de tiroides en un mamífero (por ejemplo, humano).

5 En una realización particular, el neoplasma susceptible es cáncer de mama y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de cáncer de mama en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de mama en un mamífero (por ejemplo, humano).

10 En otra realización, el neoplasma susceptible es cáncer de ovario y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de ovario en un mamífero (por ejemplo, humano).

En otra realización, el neoplasma susceptible es cáncer de célula no microcítica, y la invención proporciona compuestos para uso en el tratamiento de cáncer de célula no microcítica en un mamífero (por ejemplo, humano) y el uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer de célula no microcítica en un mamífero (por ejemplo, humano).

15 Los compuestos de la invención se pueden utilizar solos en el tratamiento de cada uno de las afecciones anteriores o se pueden utilizar para proporcionar efectos aditivos o potencialmente sinérgicos con ciertas quimioterapias existentes, radiación, productos biológicos o inmunoterapéuticos (que incluyen anticuerpos monoclonales) y vacunas. Los compuestos de la invención pueden ser útiles para restaurar la efectividad de ciertas quimioterapia y radiación existentes y o aumentar la sensibilidad a ciertas quimioterapias y/o radiación existentes.

20 Además del tratamiento de neoplasmas susceptibles, los compuestos de la invención también se pueden utilizar en el tratamiento de otras afecciones atenuadas por inhibición de una quinasa de la familia Raf, tales como síndrome cutáneo cardio-facio y enfermedad renal poliquística.

Por lo tanto, un método para tratar un neoplasma susceptible en un mamífero en necesidad del mismo puede comprender las etapas de:

25 (a) analizar una muestra de dicho neoplasma para determinar si una mutación de activación está presente en la secuencia de codificación para B-Raf en células de dicho neoplasma;

(b) seleccionar un mamífero que tiene un neoplasma con una mutación de activación en la secuencia de codificación para B-Raf; y

30 (c) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención al mamífero seleccionado en la etapa (b).

35 En ciertas realizaciones, la mutación de activación presente en la secuencia de codificación para BRAF resulta en un BRAF que tiene una sustitución de aminoácido seleccionada del grupo que consiste de R462I, I463S, G464V, G464E, G466A, G466E, G466V, G469A, G469E, D594V, F595L, G596R, L597V, L597R, T599I, V600E, V600D, V600K, V600R, T119S, y K601 E. Véase, por ejemplo, Figura 2 de Halilovic y Solvit (2008) Current Opinion in Pharmacology 8:419-26.

Por lo tanto, un método para tratar un neoplasma susceptible en un mamífero en necesidad del mismo puede comprender las etapas de:

(a) analizar una muestra de dicho neoplasma para determinar si una mutación que codifica una sustitución de aminoácidos V600E está presente en la secuencia de codificación para B-Raf en células de dicho neoplasma;

40 (b) seleccionar un mamífero que tiene un neoplasma con una mutación que codifica la sustitución de aminoácido V600E en B-Raf; y

(c) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención al mamífero seleccionado en la etapa (b).

45 Se describe la sustitución de aminoácido V600E en B-Raf, por ejemplo, en Kumar et al. (2004) J Invest Dermatol. 122(2):342-8. Esta mutación comúnmente resulta de una mutación T1799A en la secuencia de codificación para humano B-Raf. Por consiguiente, se realiza la etapa de analizar una muestra de dicho neoplasma para determinar si una mutación que codifica una sustitución de aminoácido V600E está presente en la secuencia de codificación para

B-Raf al determinar si la secuencia de codificación para B-Raf en células del neoplasma contiene la mutación T1799A.

5 El neoplasma se puede seleccionar de adenocarcinoma de Barret; carcinomas del tracto biliar; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma; tumores del sistema nervioso central que incluyen tumores del SNC primarios tales como glioblastomas, astrocitomas (por ejemplo, glioblastoma multiforme) y ependimomas, y tumores del SNC secundarios (es decir, metástasis a el sistema nervioso central de tumores que se originan fuera del sistema nervioso central); cáncer colorrectal que incluye carcinoma de colon de intestino grueso; cáncer gástrico; carcinoma de cabeza y cuello que incluye carcinoma de célula epidermoide de cabeza y cuello; cánceres hematológicos que incluyen leucemias y linfomas tales como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielógena crónica, linfoma de Hodgkin, non- linfoma de Hodgkin, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple y eritroleucemia; carcinoma hepatocelular; cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de célula microcítica y cáncer de célula no microcítica; cáncer de ovario; cáncer endometrial; cáncer pancreático; adenoma de pituitaria; cáncer de próstata; cáncer renal; sarcoma; cánceres de piel que incluyen melanomas; y cánceres de tiroides.

15 En realizaciones particulares, el neoplasma se selecciona de cáncer de mama, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de célula no microcítica, cáncer de ovario, y cáncer de tiroides. En una realización preferida, el neoplasma es melanoma.

En una realización, el mamífero es un humano.

20 En una realización, el compuesto de la invención es una sal farmacéuticamente aceptable de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida. En una realización particular, el compuesto de la invención es mesilato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida. En una realización alternativa, el compuesto de la invención es N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida.

25 La muestra del neoplasma que se va a analizar para la presencia de mutaciones de activación B-raf se puede derivar de una variedad de fuentes, que incluyen, pero no se limitan a, células individuales, una colección de células, tejido, cultivo de células, médula ósea, sangre, u otros fluidos corporales. La fuente de tejido o célula puede incluir una muestra de biopsia de tejido, una población de células clasificadas, cultivo celular, o de una sola célula. En la selección de una muestra, se debe considerar el porcentaje de la muestra que constituye células neoplásicas. En algunas realizaciones, la muestra de neoplasma se fija mediante un conservante antes de analizar la presencia de una mutación de activación.

30 La etapa de analizar una muestra del neoplasma para determinar si una mutación de activación está presente en la secuencia de codificación para B-Raf en células de dicho neoplasma se puede realizar utilizando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, se puede analizar la secuencia de codificación para B-raf en células de la muestra para determinar si contiene una mutación que resulta en la expresión de B-Raf activado. Los métodos para detectar dichas mutaciones son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Whitcombe et al. (1999) Nature Biotechnology 17:804-7, Gibson (2006) Clinica Chimica Acta 363: 32-47, Kim y Misra (2007) Annual Review of Biomedical Engineering 9:289-320, y Patentes Estadounidenses Nos. 6,326,145 y 6,270,967). Alternativamente, se pueden identificar las mutaciones de activación en B-Raf al detectar directamente la proteína activada B-Raf utilizando un agente (por ejemplo un anticuerpo) que se une selectivamente a B-Raf activado.

35 Como se utiliza aquí, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente, en el sujeto al que se administra, para provocar una respuesta biológica o médica de un cultivo celular, tejido, sistema, mamífero (que incluye humano) que es buscado, por ejemplo, por un investigador y clínico. El término también incluye dentro de su alcance cantidades efectivas para mejorar la función fisiológica normal. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención para el tratamiento de una afección mediada por al menos una quinasa de la familia Raf es una cantidad suficiente para tratar la afección en el sujeto particular. De forma similar, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención para el tratamiento de un neoplasma susceptible es una cantidad suficiente para tratar el neoplasma susceptible particular en el sujeto. En una realización de la presente invención, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención es una cantidad suficiente para regular, modular, unir o inhibir por lo menos una quinasa de la familia Raf. Más particularmente, en dicha realización, la cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención es una cantidad suficiente para regular, modular, unir o inhibir B-Raf.

40 La cantidad terapéuticamente efectiva precisa de los compuestos de la invención dependerá de una serie de factores. Existen variables inherentes a los compuestos que incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: peso molecular, actividad inhibidora en la quinasa objetivo, absorción, biodisponibilidad, distribución en el cuerpo, penetración del tejido, vida media, metabolismo, unión de proteína, y excreción. Estas variables determinan qué dosis de compuesto debe ser administrado con el fin de inhibir la quinasa objetivo en un porcentaje suficiente y durante una cantidad de tiempo suficiente para tener el efecto deseado sobre la afección a tratar (por ejemplo,

neoplasma). En general, el objetivo será para inhibir la quinasa objetivo en 50% o más durante el tiempo que sea posible. La duración de la exposición al fármaco se limitará solo por la vida media del compuesto, y los efectos secundarios del tratamiento que requieran el cese de la dosificación. La cantidad de compuesto administrado dependerá también de factores relacionados con los pacientes y la enfermedad, que incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: edad, peso, medicamentos concomitantes y condición médica del sujeto que se va a tratar, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación, y la ruta de administración. En última instancia la dosis será a discreción del médico o veterinario. Normalmente, el compuesto de la invención se suministrará para tratamiento en el rango de 0.01 a 30 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día o por dosis o por ciclo de tratamiento y más usualmente en el rango de 0.1 a 10 mg/kg de peso corporal por día o por dosis o por ciclo de tratamiento. Por lo tanto, para un humano adulto de 70 kg que se va a tratar por una afección mediada por o correlacionada a por lo menos una quinasa de la familia Raf, la cantidad real por día o por dosis o por ciclo de tratamiento usualmente sería desde 1 hasta 2000 mg y esta cantidad se puede dar en una única dosis o múltiples dosis por día o por dosis o por ciclo de tratamiento. Los regímenes de dosificación pueden variar significativamente y se determinarán y alterarán con base en la experiencia clínica con el compuesto. El espectro completo de los regímenes de dosificación que se puede emplear varía desde dosificación continua (con dosis diarias) hasta dosificación intermitente. Se puede determinar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la fórmula (I) como una proporción de la cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la fórmula (I) como la base libre. Se prevé que dosis similares serían apropiadas para el tratamiento de los neoplasmas susceptibles descritos anteriormente.

Aunque es posible que, para uso en terapia, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención se pueda administrar como el producto químico en bruto, normalmente está presente como el ingrediente activo de una composición o formulación farmacéutica. Por consiguiente, la invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención. La composición farmacéutica puede comprender adicionalmente uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. El portador(s), diluyente(s) y/o excipiente(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos. Un proceso para la preparación de una formulación farmacéutica incluye mezclar un compuesto de la invención con uno o más portadores, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar presentes en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por unidad de dosis. Dicha unidad puede contener, por ejemplo, 0.5 mg a 1 g, preferiblemente 1 mg a 700 mg, más preferiblemente 5 mg a 100 mg de un compuesto de la invención (como una base libre, solvato (que incluye hidrato) o sal, en cualquier forma), dependiendo de la afección que se va a tratar, la ruta de administración, y la edad, peso y condición del paciente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria, dosis semanal, dosis mensual, una sub-dosis o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Adicionalmente, dichas formulaciones farmacéuticas se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para administración por cualquier ruta apropiada, por ejemplo por la ruta oral (que incluye cápsulas, comprimidos, cápsulas rellenas de líquido, comprimidos desmiembros, comprimidos de liberación retardada y controlada, inmediata, tiras orales, soluciones, jarabes, bucal y sublingual), rectal, nasal, inhalación, tópica (que incluye transdérmica), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas formulaciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, al poner en asociación el ingrediente activo con el portador(s), excipiente (s) o diluyente. En general, el portador, excipiente o diluyente empleado en la formulación farmacéutica es "no tóxico", lo que significa que es/se considerada seguro para su consumo en la cantidad suministrada en la composición farmacéutica, e "inerte" significa que no reacciona/reaccionan apreciablemente con o resultan en un efecto no deseado sobre la actividad terapéutica del ingrediente activo.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas llenas de líquido o sólidas; comprimidos de liberación inmediata, retardada o controlada; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; emulsiones líquidas aceite en agua, emulsiones líquidas agua en aceite o tiras orales, tales como tiras de gel impregnadas.

Por ejemplo, para administración oral en la forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un portador farmacéuticamente aceptable oral tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan al triturar el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclarlo con un portador farmacéutico triturado de forma similar tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y agentes colorantes.

Las cápsulas sólidas se fabrican al preparar una mezcla en polvo, como se describió anteriormente, y rellenar cubiertas formadas de gelatina. Los deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido se pueden agregar a la mezcla en polvo antes de la operación

de llenado. También se puede agregar un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Más aún, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados en la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados 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 de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, al preparar una mezcla en polvo, granular o golpear, agregar un lubricante y disgregante y prensar en comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara al mezclar el compuesto, adecuadamente triturado, con un diluyente o base como se describió anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de reabsorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla de polvo se puede granular al humedecer con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábiga o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla en polvo se puede pasar a través de la máquina de comprimidos y el resultado son lingotes imperfectos divididos en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se pegue al comprimido formando dados 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 se pueden combinar con un portador inerte de flujo libre y comprimir en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o trituración. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en una capa de sellado de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Se pueden agregar colorantes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

Los fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de dosificación unitaria de tal manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Las soluciones y jarabes se pueden preparar al disolver el compuesto en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones se pueden formular al dispersar el compuesto en un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se pueden agregar solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes de isoestearilo etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivo de sabor tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea apropiado, se pueden microencapsular las formulaciones de dosificación unitaria para administración oral. La formulación también se pueden preparar para prolongar o mantener la liberación como por ejemplo al recubrir o incorporar material en partículas en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar mediante el uso de anticuerpos monoclonales como portadores individuales a los que se acoplan las moléculas del compuesto. Los compuestos también se pueden acoplar con polímeros solubles como portadores de fármacos dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropil-methacrilamidedenol, polihidroxietilaspamidafenol u óxido de polietileno-polilisina sustituido con residuos de palmitoilo. Adicionalmente, los compuestos se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido policéntrico, caprolactona poliepsilon, ácido polihidroxi butírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque entrecruzados o anfipáticos de hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden presentar como parches discretos destinados a permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período prolongado de tiempo. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede suministrar desde el parche mediante iontoforesis como se describe generalmente en *Pharmaceutical Research* (1986) 3 (6): 318.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Para tratamientos de tejidos externos, tales como piel, las formulaciones se pueden aplicar como una pomada o crema tópica. Cuando se formulan en una pomada, el ingrediente activo se puede emplear con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite. Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas al

ojo incluyen gotas para los ojos en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un portador adecuado, especialmente un solvente acuoso. Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal se pueden presentar como supositorios o como enemas.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal en donde el portador es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el rango de 20 a 500 micras que se administra de la manera en que se toma tabaco, es decir, por inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente de polvo mantenido cerca a la nariz. Las formulaciones adecuadas en donde el portador es un líquido, para administración como una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por inhalación incluyen polvos de partículas finas o nieblas, que se pueden generar por medio de diversos tipos de aerosoles presurizados de dosis medida, inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco, nebulizadores o insufladores.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación de la tonicidad farmacéuticamente aceptable con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o múltiples dosis, por ejemplo ampollas selladas y frascos, y se pueden almacenar en una condición seca por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

25 Se debe entender que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

30 En los usos descritos anteriormente, se puede emplear solo un compuesto de la invención, en combinación con uno o más de otros compuestos de la invención o en combinación con otros métodos o agentes terapéuticos. En particular, en métodos de tratamiento de una afección atenuada por la inhibición de por lo menos una quinasa de la familia Raf y en los métodos de tratamiento de neoplasmas susceptibles, la combinación con otros agentes quimioterapéuticos, biológicos, hormonales, anticuerpos y para cuidados de apoyo, está prevista así como también la combinación con terapia quirúrgica y radioterapia. Los agentes de cuidado de apoyo incluyen analgésicos, antieméticos y agentes utilizados para tratar los efectos secundarios hematológicos como neutropenia. Los analgésicos son bien conocidos en la técnica. Los antieméticos incluyen, pero no se limitan a antagonistas de 5HT₃, tales como ondansetrón, granisetron, dolasetron, palonosetrón y similares; proclorperazina; metaclopramida; difenhidramina; prometazina; dexametasona; lorazepam; haloperidol; dronabinol; olanzapina; y antagonistas de neuroquinina-1, tales como aprepitant, fosaprepitant y casopitant administrados solos o en diversas combinaciones.

40 El término "quimioterapéutico" como se utiliza aquí, se refiere a cualquier agente químico que tiene un efecto terapéutico sobre el sujeto al que se administra. Los agentes "quimioterapéuticos" incluyen, pero no se limitan a agentes antineoplásicos. Como se utiliza aquí, "agentes antineoplásicos" incluyen agentes citotóxicos y citostáticos, que incluyen terapias biológicas, inmunológicas y con vacunas. Las terapias de combinación de este modo comprenden la administración de por lo menos un compuesto de la invención y el uso de por lo menos otro método de tratamiento. En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de por lo menos un compuesto de la invención y la terapia quirúrgica. En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de por lo menos un compuesto de la invención y radioterapia. En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de por lo menos un compuesto de la invención y por lo menos un agente de cuidados de apoyo (por ejemplo, por lo menos un agente antiemético). En una realización, las terapias de combinación comprenden la administración de por lo menos un compuesto de la invención y por lo menos otro agente quimioterapéutico. En una realización particular, la invención comprende una combinación que comprende un compuesto de la invención y por lo menos un agente antineoplásico.

Como un aspecto adicional, los usos como se describió anteriormente, comprenden administrar un compuesto de la invención junto con por lo menos un agente quimioterapéutico. En una realización particular, el agente quimioterapéutico es un agente antineoplásico. En otra realización, la invención proporciona una composición

farmacéutica como se describió anteriormente que comprende adicionalmente por lo menos otro agente antineoplásico.

5 Los compuestos de la invención y por lo menos una terapia antineoplásica o de cuidado de apoyo adicional se pueden emplear en combinación de forma concomitante o secuencial en cualquier combinación terapéuticamente apropiada. La administración de un compuesto de la invención con uno o más de otros agentes antineoplásicos puede estar en combinación de acuerdo con la invención mediante administración concomitantemente en una composición farmacéutica unitaria que incluye ambos o todos los compuestos o dos o más composiciones farmacéuticas separadas que incluye cada una uno o más de los compuestos. Los componentes de la combinación se pueden administrar por separado de una manera secuencial en la que un ingrediente activo se administra primero y el otro(s) después o viceversa. Dicha administración secuencial puede ser cercana en tiempo o remota en tiempo.

15 Cuando se utiliza un compuesto de la invención en combinación con un agente antineoplásico y/o de cuidados de apoyo, la dosis de cada compuesto puede diferir de aquella cuando el compuesto se utiliza solo. Las dosis apropiadas serán apreciadas fácilmente por aquellos expertos en la técnica. La dosis apropiada del compuesto (s) de la invención y el otro agente terapéuticamente activo (s) y los tiempos relativos de administración se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado, y están dentro de la experiencia y el criterio del clínico.

20 Normalmente, cualquier agente quimioterapéutico que tiene actividad contra un neoplasma susceptible que está siendo tratado se puede utilizar 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 no se limitan a: agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, agentes antimetabólicos, inhibidores de topoisomerasa I y II, hormonas y análogos hormonales; retinoides, inhibidores de la ruta de transducción de señales, que incluyen inhibidores del crecimiento celular o de función del factor de crecimiento, inhibidores de angiogénesis, y inhibidores de serina/treonina u otras quinasas; inhibidores de quinasa dependientes de ciclina; terapias antisentido y agentes inmunoterapéuticos, que incluyen anticuerpos monoclonales, vacunas u otros agentes biológicos.

30 Los agentes alquilantes son agentes no específicos de fase antineoplásicos y electrófilos fuertes. Normalmente, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, mediante alquilación, al ADN a través de unidades estructurales nucleófilas de la molécula de ADN tales como el fosfato, amino, y grupos hidroxilo. Dicha alquilación altera la función del ácido nucleico lo que lleva a la muerte celular. Los agentes alquilantes se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a mostazas de nitrógeno tales como ciclofosfamidias, temozolamida, melfalán, y clorambucilo; oxazafosforinas; sulfonatos de alquilo tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina; triazenos tales como dacarbazina; y complejos de coordinación de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino.

35 Los agentes neoplásicos antimetabolitos son agentes antineoplásicos con especificidad de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular al inhibir la síntesis de ADN o al inhibir la síntesis de purina o base de pirimidina y limitando de esta manera la síntesis de ADN. El resultado final de la interrupción de la fase S es la muerte celular. Los agentes neoplásicos antimetabolitos se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a análogos de purina y pirimidina y compuestos de antifolato, y más específicamente, hidroxiaurea, citosina, arabinósido, raltitrexed, tegafur, fluorouracilo (por ejemplo, 5-FU), metotrexato, citarabina, mercaptopurina y tioguanina.

45 Los agentes antibióticos antitumorales son agentes sin específicos de fase, que se unen o se intercalan con el ADN. Normalmente, dicha acción altera la función ordinaria de los ácidos nucleicos, lo que lleva a la muerte celular. Los antibióticos antitumorales se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Ejemplos de agentes antibióticos antitumorales incluyen, pero no se limitan a, actinomicinas tales como dactinomicina; antraciclinas tales como daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina, epirubicina y mitoxantrona; mitomicina C y bleomicinas. Los agentes antimicrotubulares o antimetabólicos son agentes específicos de fase activos contra los microtúbulos de células tumorales durante la fase M o la mitosis del ciclo celular. Los agentes antimetabólicos se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Ejemplos de agentes antimetabólicos incluyen, pero no se limitan a, diterpenoides, alcaloides vinca, inhibidores de quinasa similar a polo (PLK) e inhibidores de CenpE. Ejemplos de diterpenoides incluyen, pero no se limitan a, paclitaxel y su análogo docetaxel. Ejemplos de alcaloides vinca incluyen, pero no se limitan a, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina. Los inhibidores de Plk se discuten más adelante.

55 Los inhibidores de topoisomerasa incluyen inhibidores de topoisomerasa II e inhibidores de topoisomerasa I. Los inhibidores de topoisomerasa II, tales como epipodofilotoxinas, son agentes antineoplásicos derivados de la planta mandrágora, que normalmente afecta a las células en las fases S y G2 del ciclo celular al formar un complejo

ternario con la topoisomerasa II y el ADN, provocando roturas de la cadena de ADN. Las roturas de la cadena se acumulan y sigue la muerte celular. Ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, pero no se limitan a, etopósido y tenipósido. Las camptotecinas, que incluyen camptotecina y derivados de camptotecina, están disponibles o en desarrollo como inhibidores de topoisomerasa I. Ejemplos de camptotecinas incluyen, pero no se limitan a

5 amsacrina, irinotecan, topotecan, y diversas formas ópticas de 7- (4-metil-piperazino-metileno) 10,11-etilenodioxo-20-camptotecina. Se pueden emplear inhibidores de topoisomerasa en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente.

Las hormonas y los análogos hormonales son compuestos útiles para el tratamiento de cánceres en los que existe una relación entre la hormona (s) y el crecimiento y/o la falta de crecimiento del cáncer. Las hormonas y análogos

10 hormonales antitumorales se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Ejemplos de hormonas y análogos hormonales que se considera son útiles en el tratamiento de neoplasmas incluyen, pero no se limitan a antiestrógenos, tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, fulvestrant, yodoxifeno y droloxifeno; antiandrógenos; tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida y acetato de ciproterona; adrenocorticosteroides tales como prednisona y prednisolona;

15 aminoglucetimidina y otros inhibidores de aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol, y exemestano; progestrinas tales como acetato de megestrol; inhibidores de 5 α -reductasa tales como el finasterida y dutasterida; y hormonas liberadora de gonadotropina (GnRH) y análogos de los mismos, tales como agonistas y antagonistas de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) tales como goserelina, leuprorelina y busarelina.

Los retinoide (s) son compuestos que se unen y activan por lo menos un receptor de ácido retinoico seleccionado de RAR α , RAR β , y RAR γ y/o compuestos que se unen y activan por lo menos uno de RAR α , RAR β , y RAR γ y también por lo menos un receptor retinoico X (RXR), que incluyen RXR α , RXR β , y RXR γ . Los retinoides para uso en la presente invención normalmente tienen afinidad para RAR, y en particular para RAR α y/o RAR β . Sin embargo, ciertos retinoides sintéticos, tales como el ácido 9-cis-retinoico también tienen afinidad para RAR y RXR. En una realización, el retinoide tiene afinidad por RAR α (y agonista de RAR α). Ejemplos de retinoides específicos que se

20 pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención incluyen: ácido retinoico; ácido todo-trans-retinoico ("ATRA", también conocido como "tretinoína"); tamibarotene ("AM80"); ácido 9-cis-retinoico (ácido (2E,4E,6Z,8E) - 3,7-dimetil-9- (2,6,6-trimetilciclohex-1-enil) nona-2,4,6,8-tetraenoico) (también conocido como "9-cis-tretinoína") (disponible de Sigma); isotretinoína (ácido (2Z,4E,6E,8E) -3,7-dimetil-9- (2,6,6-trimetil-1-ciclohexenil) nona- 2,4,6,8- tetraenoico) (también conocido como "ácido 13-cis-retinoico") (ACCCUTANE®); Am580 (ácido 4- (5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftamido) benzoico), Véase, M. Gianni, Blood 1996 87 (4): 1520-1531; TTNPB (ácido 4- [E-2- (5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2- naftalenil) -1-propenil] benzoico) (también conocido como "Ro 13- 7410") Véase, MF Boehm et al. J. Med. Chem. 1994 37: 2930 y R.P. Bissonnette et al., Mol. Cell. Biol. 1995 15: 5576; y BMS753 (ácido 4 - [[(2,3-dihidro-1,1,3,3-tetrametil- 2-oxo-1 H-inden-5-il) carbonil] amino] benzoico) Véase, USPN 6184256. Otros agonistas de RAR α conocidos en la técnica también se pueden utilizar en la presente

25 invención.

Los inhibidores de la ruta de transducción de señal son aquellos inhibidores que bloquean o inhiben un proceso químico que provoca un cambio intracelular. Como se utiliza aquí estos cambios incluyen, pero no se limitan a, proliferación o diferenciación celular o supervivencia. Los inhibidores de la ruta de transducción de señal útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de tirosina quinasas receptoras, tirosina quinasas no receptoras, bloqueadores de dominio SH2/SH3, serina/treonina quinasas, fosfatidil inositol-3-OH quinasas, señalización de mioinositol, y oncogenes Ras. Los inhibidores de ruta de transducción de señal se pueden emplear en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente.

40

Diversas proteínas de tirosina quinasas catalizan la fosforilación de residuos de tirosina específicos en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Dichas proteínas de tirosina quinasas se pueden clasificar ampliamente como quinasas receptoras o no receptoras.

45

Los inhibidores del receptor de tirosina quinasa que se pueden combinar con los compuestos de la invención incluyen aquellos implicados en la regulación del crecimiento celular, cuyos receptores tirosina quinasas se refieren a veces como "receptores de factores de crecimiento". Ejemplos de inhibidores del receptor del factor de crecimiento, incluyen, pero no se limitan a inhibidores de: receptores del factor de crecimiento de insulina (IGF-1R, IR y IRR); receptores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ErbB2 y ErbB4); receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptores del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFRs), tirosina quinasa con dominios de homología del factor de crecimiento epidérmico y similar a inmunoglobulina y (TIE-2), factor estimulante de colonias de macrófagos (c-FMS), c-kit, c-met, receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptores del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFRs), los receptores

50 Trk (TrkA, TrkB, y TrkC), receptores de efrina (EPH) y protooncogén RET.

Diversos inhibidores de receptores de factores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa, oligonucleótidos antisentido y aptámeros. Cualquiera de estos inhibidores del receptor del factor de crecimiento se puede emplear en combinación con los compuestos de la invención en cualquiera de las composiciones y métodos/ usos descritos aquí. El Trastuzumab (Herceptin®) es un

ejemplo de un inhibidor de anticuerpo anti-erbB2 de la función del factor de crecimiento. Un ejemplo de un inhibidor de anticuerpo anti-erbB1 de la función del factor de crecimiento es cetuximab (Erbbitux™, C225). El Bevacizumab (Avastin®) es un ejemplo de un anticuerpo monoclonal dirigido contra VEGFR. Ejemplos de inhibidores de molécula pequeña de los receptores del factor de crecimiento epidérmico incluyen, pero no se limitan a lapatinib (Tykerb™) y erlotinib (TARCEVA®). El Imatinib (Gleevec®) es un ejemplo de un inhibidor de PDGFR. Ejemplos de inhibidores de VEGFR incluyen pazopanib, ZD6474, AZD2171, PTK787, sunitinib y sorafenib.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de la invención en combinación con un inhibidor de EGFR o ErbB para uso en tratamiento de cualquiera de las diversas afecciones enumeradas anteriormente. En una realización particular de la presente invención un compuesto de la invención se utiliza en combinación con lapatinib. En una realización particular de la presente invención un compuesto de la invención se utiliza en combinación con trastuzumab. En una realización particular de la presente un compuesto de la invención se utiliza en combinación con erlotinib. En una realización particular de la presente invención un compuesto de la invención se utiliza en combinación con gefitinib.

En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de la invención en combinación un inhibidor de VEGFR para uso en el tratamiento de cualquiera de las diversas afecciones enumeradas anteriormente. En una realización particular de la presente invención un compuesto de la invención se utiliza en combinación con pazopanib.

Las tirosina quinasas que son no son quinasas del receptor de factor de crecimiento de transmembrana se denominan tirosina quinasas no receptoras o intracelulares. Los Inhibidores de las tirosina quinasas no receptoras algunas veces se denominan como "agentes antimetastásicos" y son útiles en la presente invención. Los objetivos y objetivos potenciales de los agentes antimetastásicos, incluyen, pero no se limitan a, c-Src, Lck, Fyn, Yes, Jak, quinasa Abl (c-Abl y Bcr-Abl), FAK (quinasa de adhesión focal) y tirosina quinasa de Bruton (BTK). Quinasas no receptoras y agentes, que inhiben la función de la tirosina quinasa no receptora, se describen en Sinha, S. y Corey, S.J., (1999) J. Hematother. Stem Cell Res. 8:465-80; y Bolen, J.B. y Brugge, J.S., (1997) Annu. Rev. of Immunol. 15:371-404.

Los bloqueadores de dominio SH2/SH3 son agentes que interrumpen la unión del de dominio SH2 o SH3 en una variedad de enzimas o proteínas adaptadoras que incluyen, pero no se limitan a, subunidad p85PI3-K, quinasas de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Ejemplos de inhibidores de Src incluyen, pero no se limitan a, dasatinib y y BMS-354825 (J.Med.Chem (2004) 47:6658-6661).

Los inhibidores de serina/treonina quinasas también se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención en cualquiera de las composiciones y métodos descritos anteriormente. Ejemplos de inhibidores de serina/treonina quinasas que también se pueden utilizar en combinación con un compuesto de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de quinasas similares a polo (familia Plk por ejemplo, Plk1, Plk2, y Plk3), que desempeñan una función críticas en los procesos regulares en el ciclo celular que incluyen la entrada y salida de mitosis; bloqueadores de la cascada de MAP quinasa, que incluyen otros inhibidores de la quinasa Ras/Raf, mitógeno o quinasas reguladas extracelulares (MEKs), y quinasas reguladas extracelulares (ERKs); inhibidor de quinasas Aurora (que incluyen inhibidores de Aurora A y Aurora B); bloqueadores del miembro de la familia de la proteína de quinasa C (PKC), que incluyen inhibidores de subtipos PKC (alfa, beta, gamma, ypsilon, mu, lambda, iota, zeta); inhibidores de la familia de quinasa kappa-B (IkB) (IKK-alpha, IKK-beta); inhibidores de familia de quinasa PKB/Akt; e inhibidores de receptor quinasa receptorasTGF-beta s. Ejemplos de inhibidores de Plk se describen en la Publicación PCT No. WO04/014899 y WO07/03036. Otros ejemplos de inhibidores de serina/treonina quinasa se conocen en la técnica. En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de la invención en combinación con un inhibidor de Plk para uso en el tratamiento de cualquiera de las diversas afecciones enumeradas anteriormente. En una realización particular la presente invención comprende un compuesto de la invención en combinación con 5-{6-[(4-metilpiperazin-1-il)metil]-1H-bencimidazol-1-il}-3-[(1R)-1-[2-(trifluorometil)fenil]etoxi] tiofeno-2-carboxamida para dicho uso.

La uroquinasa, también conocida como activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), es una serina proteasa. La activación de la plasmina de la proteasa serina desencadena una cascada proteolisis que está implicado en la trombolisis o degradación de matriz extracelular. La expresión elevada de la uroquinasa y diversos otros componentes del sistema de activación del plasminógeno se han correlacionado con tumor maligno que incluyen diversos aspectos de la biología del cáncer tales como adhesión celular, migración y también rutas de mitosis celular. Los inhibidores de expresión de uroquinasa se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente.

Los inhibidores de Ras oncogén también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de la presente invención. Dichos inhibidores incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la farnesiltransferasa, transferasa de geranilo-geranilo, y proteasas CAAX así como oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Dichos inhibidores han demostrado que bloquean la activación de Ras en células que contienen Ras mutante, actuando de esta manera como agentes antiproliferativos.

Los inhibidores de quinasas implicadas en el eje de señalización de IGF-1R también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de la presente invención. Dichos inhibidores incluyen, pero no se limitan a inhibidores de JNK1/2/3, PI3K, AKT y MEK, e inhibidores de señalización 14.3.3. Ejemplos de inhibidores de AKT se describen en la Publicación PCT No. WO 2007/058850, publicada 24 de mayo 2007, que corresponde a la Solicitud PCT No. PCT/US2006/043513, presentada el 9 de noviembre de 2006. Una inhibidor de AKT particular, describe allí es 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[[3S]-3-piperidinilmetil] oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol.

Los inhibidores de señalización ciclo celular, que incluyen inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (CDKs) son también útiles en combinación con los compuestos de la invención en las composiciones y métodos descritos anteriormente. Los ejemplos de quinasas dependientes de ciclina, que incluyen CDK2, CDK4, y CDK6 e inhibidores para el mismo se describen en, por ejemplo, Rosania G. R., et al., Exp. Opin. Ther. Patentes (2000) 10: 215-230.

Los inhibidores de la angiogénesis de la quinasa receptora también pueden encontrar uso en la presente invención. Los inhibidores de la angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE-2 se analizan anteriormente con respecto a la inhibidores de transducción de señal (ambas son tirosina quinasas receptoras). Otros inhibidores se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención. Por ejemplo, los anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (la tirosina quinasa receptora), pero se unen al ligando; inhibidores de moléculas pequeñas de integrina (alfaV beta3) que inhiben la angiogénesis; endostatina y angiostatina (no RTK) también pueden resultar útiles en combinación con los compuestos de la invención. Un ejemplo de un anticuerpo VEGFR es bevacizumab (AVASTIN®).

Los inhibidores de miembros de la familia de fosfatidil inositol-3-OH quinasa que incluyen bloqueadores de PI3-quinasa, ATM, DNAPK, y Ku también pueden ser útiles en combinación con la presente invención.

También de uso potencial en combinación con los compuestos de la invención son inhibidores de señalización de mioinositol tales como bloqueadores de la fosfolipasa C y análogos de mioinositol.

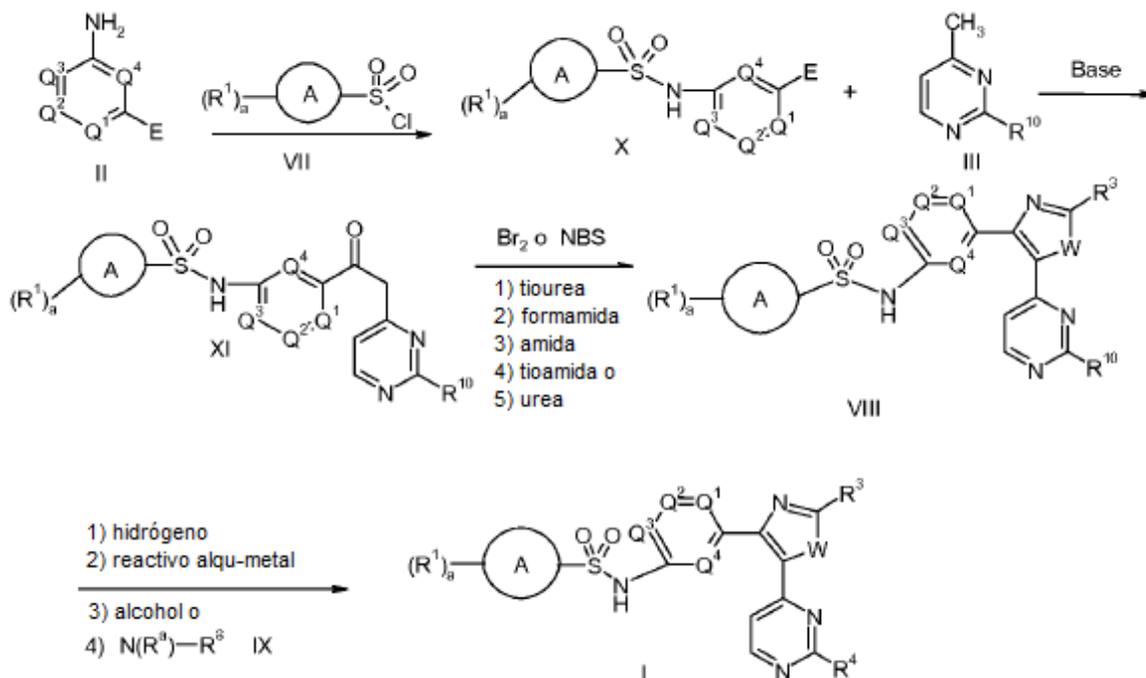
También se pueden utilizar siARN, ARNi, polinucleótidos de ácido nucleico bloqueados, y las terapias antisentido también se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención. Ejemplos de dichas terapias antisentido incluyen aquellas dirigidas hacia los objetivos descritos anteriormente, tales como ISIS 2503 y los métodos de terapia génica tales como aquellos que utilizan la timidina quinasa o la citosina desaminasa. Los agentes utilizados en regímenes inmunoterapéuticos también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de la invención. Los regímenes inmunoterapéuticos incluyen métodos ex-vivo e in-vivo para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tales como transfección con citoquinas (por ejemplo, IL-2, IL-4, GMCFS y MCFS), métodos para aumentar la actividad de las células T, métodos con células inmunes transfectadas y métodos con anticuerpos anti-idiotípicos. Otro régimen inmunoterapéutico potencialmente útil es el de anticuerpos monoclonales con los receptores Fc de tipo natural que pueden ilícitar una respuesta inmune en el anfitrión (anticuerpos monoclonales por ejemplo, IGF-1R).

También se pueden utilizar agentes utilizados en regímenes proapoptóticos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido Bcl-2) en combinación con los compuestos de la invención. Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 bloquean la apoptosis. Por lo tanto, la regulación por aumento de Bcl-2 se ha vinculado con la quimiorresistencia. Los estudios han demostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2 (es decir, mcl-1). Por lo tanto, las estrategias diseñadas para regular por disminución la expresión de Bcl-2 en tumores han demostrado beneficio clínico y están ahora en la fase II/III, a saber, oligonucleótidos antisentido bcl-2 G3139 de Genta. Dichas estrategias proapoptóticas que utilizan la estrategia de oligonucleótidos antisentido para Bcl-2 se analizan en Water, J.S., et al., J. Clin. Oncol. (2000) 18:1812-1823; y Kitada, S., et al., Antisense Res. Dev. (1994) 4:71-79.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar utilizando los procesos descritos adelante. En todos los esquemas descritos a continuación, se entiende que se pueden emplear donde sea necesario grupos protectores de acuerdo con los principios generales conocidos por aquellos expertos en la técnica, por ejemplo, véase Green, T.W. y Wuts, P.G.M. (1991) Group protectors in Organic Synthesis, John Wiley & Sons. La selección de un grupo protector particular, y los procesos para instalación y eliminación de los grupos protectores están dentro de la experiencia de aquellos expertos en la técnica. La selección de los procesos de instalación y eliminación de grupos protectores, así como las condiciones de reacción y orden de su ejecución será consistente con la preparación de compuestos de la invención.

Los compuestos de la fórmula (I), se pueden preparar de forma conveniente por los métodos representados en el Esquema 1 adelante.

Esquema 1



en donde:

R¹⁰ es halo (preferiblemente cloro) o tiometilo;

- 5 E es un éster carboxílico adecuado o éster carboxílico equivalente, particularmente un éster de metilo, éster de etilo, o amida de Weinreb;

R^a es H o CH₃;

alqu es alquilo o alqueniilo; y

todas las otras variables son como se definió anteriormente.

- 10 En este y los Esquemas de reacción posterior, NBS es N-bromosuccinimida.

El proceso para preparar los compuestos de la fórmula (I) de acuerdo con Esquema 1 (todas las fórmulas y todas las variables que se han definido anteriormente) comprende las etapas de:

a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II) con un compuesto de la fórmula (VII) para preparar un compuesto de la fórmula (X);

- 15 b) condensar el compuesto de la fórmula (X) con una pirimidina sustituida de la fórmula (III) para preparar un compuesto de la fórmula (XI);

c) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XI) con un agente de bromación adecuado, seguido por hacer reaccionar con uno de:

i) una tiourea,

- 20 ii) una formamida,

iii) una amida,

iv) una tioamida, o

v) una urea;

para preparar un compuesto de la fórmula (VIII);

d) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (VIII) con uno de:

i) hidrógeno molecular

5 ii) un reactivo de metal alquilo o reactivo de metal alquenido

iii) un alcohol, o

iv) un compuesto de la fórmula (IX): $N(R^a)-R^b$, en donde R^a es H o CH_3 ,

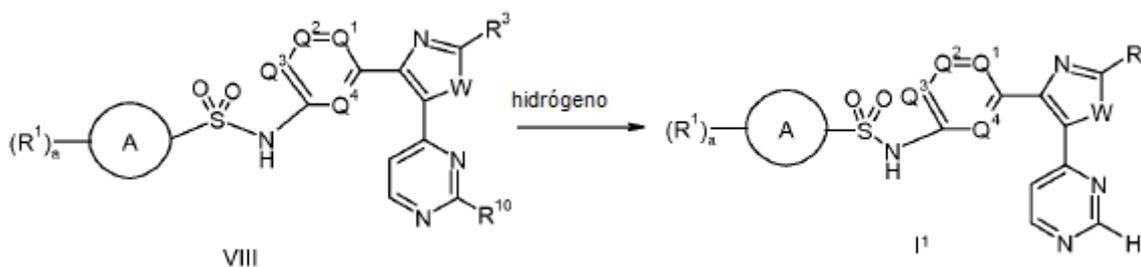
para preparar un compuesto de la fórmula (I);

e) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

10 f) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un compuesto diferente de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El orden de las etapas anteriores no es crítico a los procesos y el proceso se puede llevar a cabo utilizando cualquier orden de las etapas.

15 Los compuestos de la fórmula (I) en donde R^4 es H se puede preparar al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VIII) con una fuente de hidrógeno molecular en la presencia de un catalizador de metal de transición:



en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

20 Las condiciones apropiadas para la reacción de reducción serán evidentes para aquellos expertos en la técnica e incluyen hidróxido de paladio sobre carbono, paladio sobre carbono, platino sulfurado sobre carbono, o níquel Raney utilizando formiato de amonio u otra fuente adecuada de hidrógeno molecular o alternativamente bajo una atmósfera de hidrógeno. La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte a ya sea presión atmosférica o elevada. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 25°C a 80°C, preferiblemente 50-70°C. Los solventes inertes adecuados incluyen, pero no se limitan a etanol, metanol, y acetato de etilo.

25 Los compuestos de la fórmula (I) en donde R^4 es alquilo, haloalquilo, alquenido, $-R^5-OR^6$, $R^5-CO_2R^6$, $-R^5-SO_2R^6$, $-R^5-Het$ o $-R^5-NR^6R^7$, se puede preparar al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VIII) con un alquilo o reactivo de metal alquenido tal como los compuestos que tienen la fórmula $Alqu_nMX_m$ o $X_mMR^5-CO_2R^6$

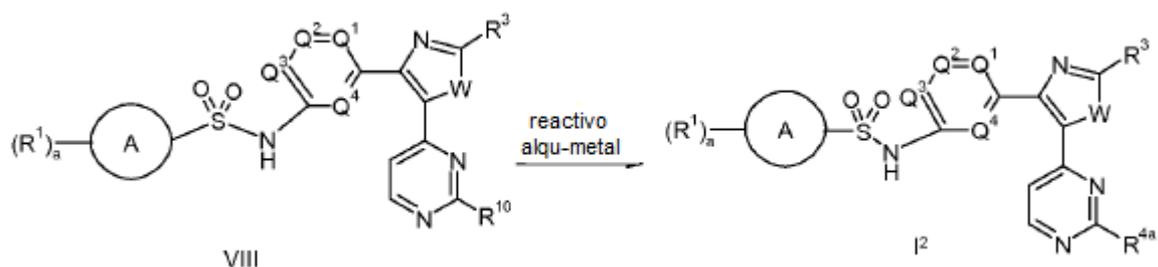
en donde Alqu es alquilo o alquenido;

n es 1, 2, 3 o 4; M es un metal de transición tal como Zn, B o Sn;

X es halo, particularmente Cl o Br;

30 m es 0, 1 o 2; y

todas las otras variables son como se definió anteriormente:



en donde

R^{4a} es alquilo, haloalquilo, alquenilo, $-R^5-OR^6$, o $R^5-CO_2R^6$; y

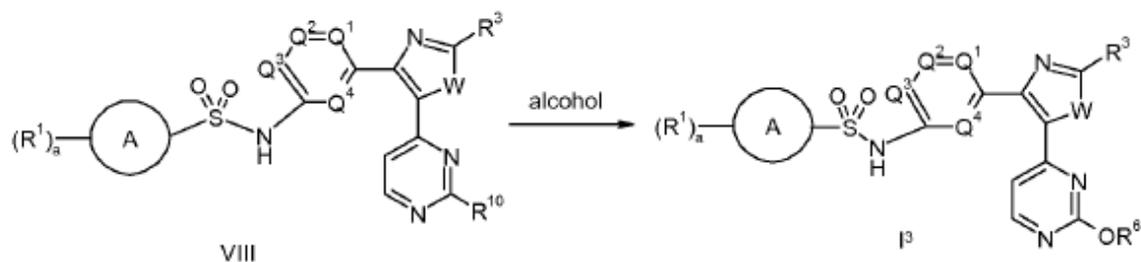
todas las otras variables son como se definió anteriormente.

- 5 Ejemplos específicos de alquilo adecuado o reactivos de metal alquenilo incluyen pero no se limitan a dialquilcinc, alquilcinc haluros, alquilboranos, alquenilboranos, alquenilboratos y alqueniloestannanos, ya sea encontrados comercialmente o que se pueden preparar por aquellos expertos comunes en la técnica por medios convencionales.

En particular, se realiza la reacción en la presencia de una fuente de una fuente de paladio, opcionalmente un ligando de fosfina y opcionalmente una base en un solvente inerte adecuado. Ejemplos de fuentes de paladio adecuadas incluyen pero no se limitan a bis(tri-*t*-butilfosfina) paladio (0), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0), diclorobis(trifenilfosfina)- paladio (II) o acetato(2'-di-*t*-butilfosfino-1,1'-bifenil-2-il)paladio (II). Ejemplos de ligandos de fosfina adecuados incluyen pero no se limitan a 9,9-dimetil-4,5-bis(difenilfosfino) xanteno y trifenilfosfina. Ejemplos de bases adecuadas incluyen pero no se limitan a acetato de potasio, carbonato de cesio, metóxido de sodio, y trietilamina. Ejemplos de solventes inertes adecuados incluyen pero no se limitan a THF, tolueno, N,N-dimetilformamida o 1,4-dioxano, o isopropanol en el caso de alquenilboratos. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 25°C a 100°C.

Un compuesto de la fórmula (I²) en donde R^4 es alquenilo, se puede convertir a un compuesto de la fórmula (I) en donde R^4 es $-R^5-SO_2R^6$, $-R^5-Het$ o $-R^5-NR^6R^7$ mediante reacción con un nucleófilo apropiado. Por ejemplo un compuesto de la fórmula (I) en donde R^4 es $-R^5-SO_2R^6$, o $-R^5-NR^6R^7$ se puede preparar al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (I²) en donde R^4 es alquenilo con un tiol o amina, respectivamente. Las condiciones de reacción para dichas transformaciones se conocen por aquellos expertos en la técnica.

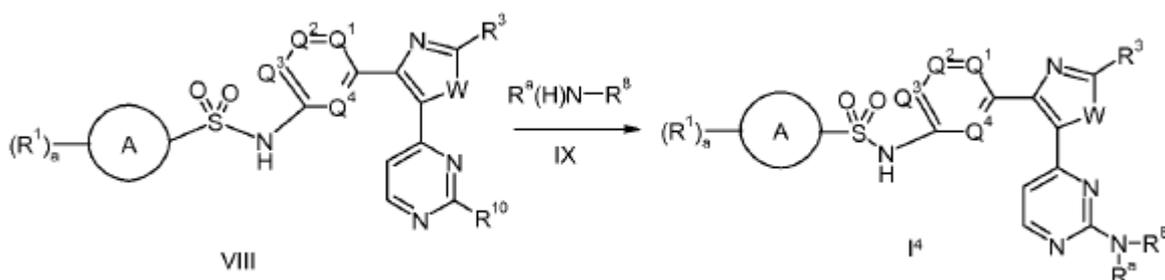
Se preparan los compuestos de la fórmula (I) en donde R^4 es $-OR^6$, d al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VIII) con un alcohol adecuado:



25 en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

Ejemplos específicos de alcoholes adecuados incluyen pero no se limitan a metanol, etanol, n-propanol o n-butanol. La reacción opcionalmente se puede llevar a cabo en la presencia de una base tal como, pero no limitada a carbonato de cesio, metóxido de sodio, y trietilamina. La reacción normalmente se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 50-120°C, a presión atmosférica o elevada y opcionalmente en un microondas.

30 Se preparan los compuestos de la fórmula (I) en donde R^4 es $N(H)R^8$ (es decir, los compuestos de la fórmula (I⁴)) al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VIII) con un compuesto de la fórmula (IX):



en donde R^a es H o CH₃ y todas las otras variables son como se definió anteriormente.

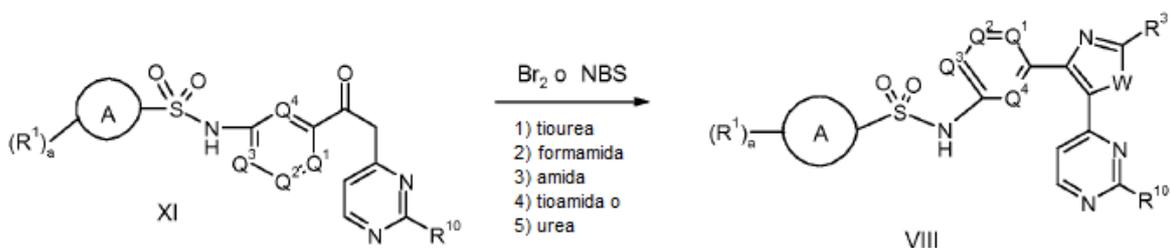
Aquellos expertos en la técnica reconocerán que las condiciones requeridas para la anterior reacción diferirán dependiendo de la definición de R¹⁰. Cuando R¹⁰ es halo (preferiblemente cloro), la reacción en general se realiza en un solvente puro. Los solventes adecuados incluyen pero no se limitan a isopropanol, metanol, 1,4-dioxano, etanol, dimetilacetamida, trifluoroetanol, y N,N-dimetilformamida. La reacción normalmente se lleva a cabo a una temperatura desde aproximadamente 30 hasta aproximadamente 120°C, o opcionalmente en un aparato de microondas. En la realización donde R⁴ es NH₂, la reacción se lleva a cabo con una fuente de amoníaco, por ejemplo, amoníaco en metanol o preferiblemente hidróxido de sodio. La reacción normalmente se lleva a cabo sin la adición de otros solventes y a temperaturas de aproximadamente 60°C a aproximadamente 120°C, en un recipiente de reacción sellado u opcionalmente en un aparato de microondas. Será evidente para aquellos expertos en la técnica de la química orgánica, también puede ser deseable instalar grupos protectores adecuados apropiados antes de hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (VIII) con el compuesto de la fórmula (IX). Por ejemplo, en la realización, en donde R⁴ es un grupo que contiene una amina primaria pendiente o secundaria, la adición preferiblemente se lleva a cabo cuando la amina pendiente se protege como, por ejemplo, su carbamato de t-butilo correspondiente o trifluoroacetamida. La elección, instalación y eliminación de los grupos protectores apropiados para las reacciones de este tipo es convencional en la técnica. Los compuestos de fórmula (IX) están disponibles comercialmente o se pueden sintetizar utilizando técnicas convencionales en la arte.

Cuando R¹⁰ es tiometilo, el tiometilo primero se puede convertir a un grupo saliente más adecuado, por ejemplo sulfóxido, sulfona, o cloruro. El tiometilo se puede convertir en un sulfóxido o sulfona mediante oxidación con un agente de oxidación apropiado, por ejemplo oxona, peryodato de sodio, o ácido meta-cloroperbenzoico, en un solvente apropiado, por ejemplo diclorometano, metanol, o agua. Aquellos expertos en la técnica reconocerán que esto producirá un análogo del compuesto de la fórmula (VIII) en el que R¹⁰ es un sulfóxido o sulfona. El producto oxidado luego se hace reaccionar con el compuesto de la fórmula (IX) para preparar un compuesto de la fórmula (I).

Estas reacciones en general se realizan en un solvente adecuado, por ejemplo 2-propanol, dimetilacetamida, o dioxano, opcionalmente con la adición de ácido, por ejemplo ácido clorhídrico, y a una temperatura de 25-110°C, preferiblemente 70-90°C, o en un reactor de microondas a una temperatura de 90-220°C, preferiblemente 160-190°C.

Alternativamente, el pirimidinil sulfóxido o sulfona se pueden convertir a la hidroxil pirimidina mediante reacción con un ácido acuoso apropiado, por ejemplo ácido clorhídrico o ácido acético, a una temperatura de 25-110°C, preferiblemente 70-90°C. La hidroxil pirimidina luego se puede convertir a un cloruro utilizando un reactivo de clorinación apropiado, por ejemplo oxiclورو de fósforo o cloruro de tionilo, opcionalmente en un solvente, por ejemplo diclorometano, a una temperatura de 25-120°C, preferiblemente 60-80°C. Aquellos expertos en la técnica reconocerán que este proceso producirá un compuesto de la fórmula (VIII) en donde R¹⁰ es cloro, que se puede hacer reaccionar con un compuesto de la fórmula (IX) como se describió anteriormente.

Los compuestos de la fórmula (VIII) se puede preparar al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (XI) con un reactivo de bromación adecuado, particularmente bromo o NBS, seguido al hacer reaccionar con uno de: 1) una tiourea, 2) una formamida 3) una amida 4) una tioamida o 5) una urea dependiendo de si el tiazol u oxazol y que sustituyentes R³ particulares, se desean:

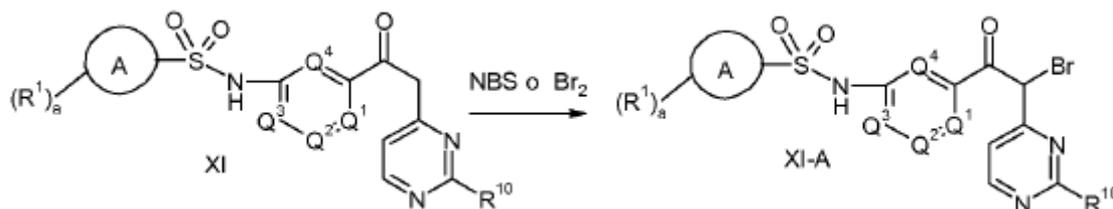


en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

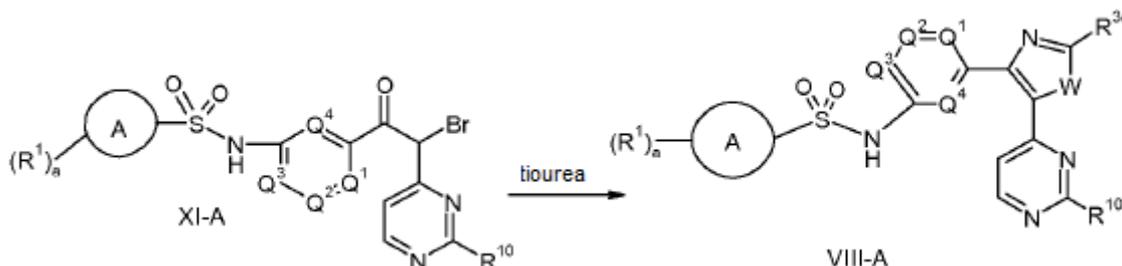
En este y los Esquemas posteriores, la referencia a tiourea, formamida, amida, tioamida o urea en relación con este tipo de reacción se refiere a tiourea no sustituida, formamida, amida, tioamida o urea y análogos sustituidos de los mismos. En particular, la tiourea, formamida, amida, tioamida o urea se pueden sustituir con el grupo deseado R^3 .

5 Los análogos de tiourea, formamida, amida, tioamida o urea adecuadamente sustituidos están comercialmente disponibles o se pueden preparar utilizando técnicas convencionales.

Cuando un aminotiazol (es decir, el compuesto de la fórmula (VIII) en donde W es S y R^3 es $-NR^6R^7$ o Het se desea, la reacción se puede lograr mediante bromación inicial de un compuesto de la fórmula (XI) utilizando un reactivo de bromación apropiado, por ejemplo bromo en solvente tal como ácido acético o NBS:



La reacción normalmente se lleva a cabo en un solvente apropiado, por ejemplo diclorometano, N,N-dimetilformamida, o N,N-dimetilacetamida, y a una temperatura de 25-50°C, particularmente 25°C. El análogo brominado (es decir, un compuesto de la fórmula (XI-A)) luego se hace reaccionar con una tiourea apropiadamente sustituida:



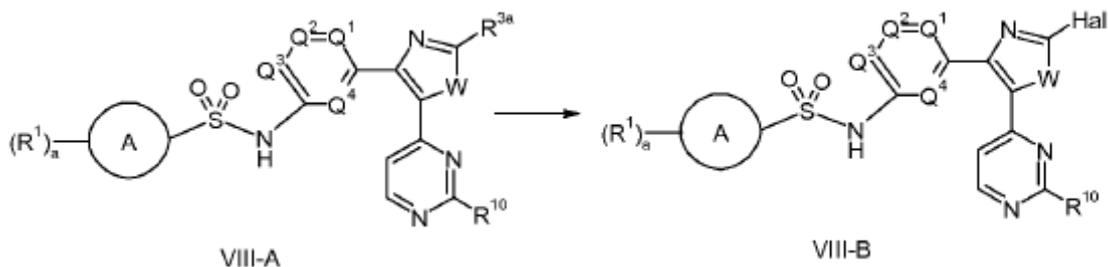
en donde W es S, R^{3a} es $-NR^6R^7$ o Het y todas las otras variables son como se definió anteriormente.

20 La reacción normalmente se lleva a cabo en un solvente apropiado, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, diclorometano, tetrahidrofurano, dioxano, o acetonitrilo, opcionalmente en la presencia de una base adecuada, por ejemplo carbonato de magnesio o bicarbonato de sodio, y a una temperatura de 25-90°C, particularmente 25-50°C. Aquellos expertos en la técnica reconocerán que la tiourea puede ser no sustituida, resultando de esta manera en un compuesto de la fórmula (VIII) en donde R^3 es NH_2 ; o la tiourea puede llevar uno o más sustituyentes adicionales sobre uno de los átomos de nitrógeno.

25 En esta y reacciones posteriores, un compuesto, tal como un compuesto de la fórmula (VIII), en donde R^3 es un grupo amino (es decir, $-NR^6R^7$), se puede convertir a un compuesto correspondiente en donde R^3 es diferente de amino (o amino sustituido) utilizando las técnicas descritas aquí y aquellas convencionales en la técnica.

30 Por ejemplo, el compuesto aminotiazol de la fórmula (VIII-A) en donde R^3 es un grupo amino, se puede convertir a un tiazol no sustituido (es decir, un compuesto de la fórmula (VIII) en donde R^3 es H) utilizando métodos familiares a aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, el tiazol se puede preparar al hacer reaccionar el aminotiazol con un reactivo apropiado, por ejemplo nitrito de t-butilo, en un solvente apropiado, por ejemplo tetrahidrofurano, y a una temperatura de 35-75°C, particularmente 40-60°C.

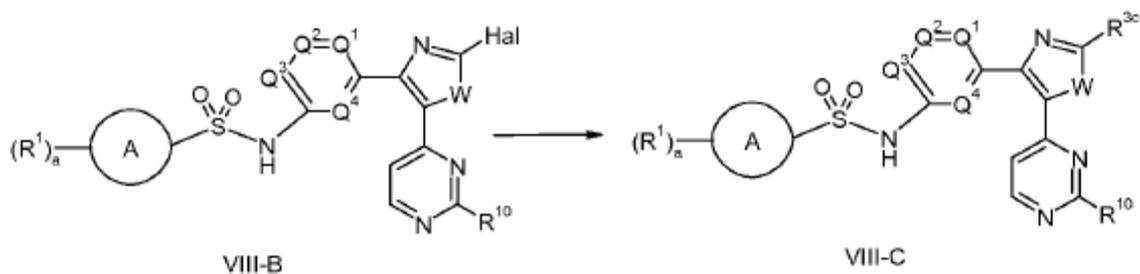
Cuando se desea un tiazol sustituido, se puede modificar un aminotiazol de la fórmula (VIII) de acuerdo con métodos que serán familiares a aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, el compuesto aminotiazol de la fórmula (VIII-A) se puede convertir a un compuesto de la fórmula (VIII-B) mediante reacción con reactivos capaces de reemplazar el grupo amino con un haluro, preferiblemente un bromuro:



en donde Hal es halo, preferiblemente Br; y todas las otras variables son como se definió anteriormente.

5 La conversión a un halo-tiazol de la fórmula (VIII-B) se puede llevar a cabo mediante reacción con por ejemplo, nitrito de t-butilo y bromuro de cobre (II) en un solvente adecuado, tal como tetrahidrofurano o acetonitrilo, y a una temperatura desde -10°C hasta 50°C , preferiblemente 0°C a 25°C . El halo-tiazol de la fórmula (VIII-B), luego se puede hacer reaccionar bajo una variedad de condiciones conocidas por aquellos expertos en la técnica para producir diferentes compuestos de tiazol de la fórmula (VIII-C) en donde R^3 puede ser una variedad de sustituyentes consistentes con la definición de R^3 en referencia a los compuestos de la Fórmula (I).

10 Un ejemplo de dicha reacción es similar al método de J. Tsuji "Palladium Reagents and Catalysts: Innovations in Organic Synthesis", Wiley, Chichester, UK, 1995, que involucra la reacción del halo-tiazol de la fórmula (VIII-B) con un reactivo capaz de experimentar acoplamiento con base en paladio para preparar los compuestos de la fórmula (VIII-C) en donde R^{3c} es alquilo, haloalquilo, o alquenido:



en donde

15 Hal es halógeno;

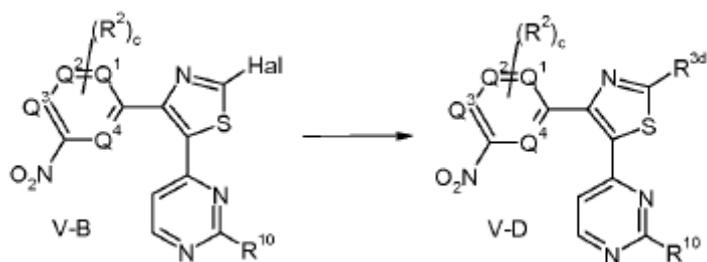
R^{3c} es alquilo, haloalquilo o alquil-OH; y

todas las otras variables son como se definió anteriormente.

20 Por ejemplo se puede hacer reaccionar el halo-tiazol de la fórmula (VIII-B) con un ácido borónico, éster de boronato, alquilo estaño, alquilo cinc o reactivo de Grignard, en un solvente apropiado, por ejemplo tetrahidrofurano, dioxano, o dimetilformamida, en la presencia de un catalizador capaz de inducir dicha transformación, particularmente un catalizador de paladio, por ejemplo paladiodiclorobis(trifenilfosfina), y a una temperatura de $25-150^{\circ}\text{C}$, preferiblemente $25-60^{\circ}\text{C}$. Aquellos expertos en la técnica reconocerán que aquellas reacciones de acoplamiento a menudo requerirán la adición de una base adecuada, tal como carbonato de sodio acuoso, carbonato de cesio, o trietilamina y/o la adición de un ligando adecuado para las especies de paladio, por ejemplo una trialkilfosfina o una triarilfosfina, por ejemplo trifenilfosfina.

25

Otro ejemplo de dicha reacción involucra la reacción del halo-tiazol de la fórmula (V-B) con un reactivo capaz de desplazar el bromuro, por ejemplo una amina, tal como piperidina, metilamina, o metil piperazina:



en donde

Hal es halógeno;

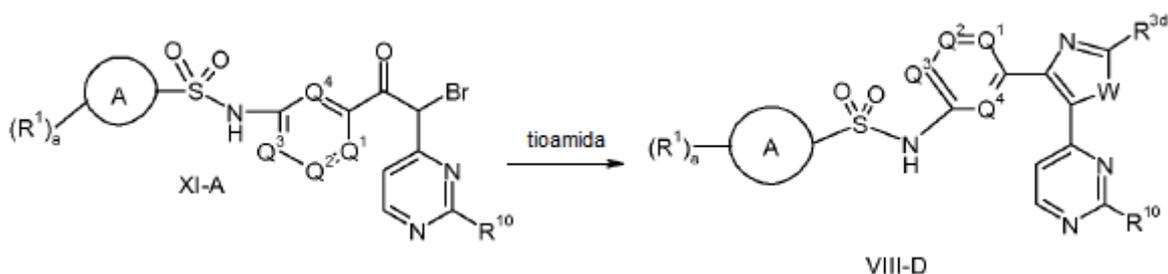
R^{3d} es -NR⁶R⁷; y

5 todas las otras variables son como se definió anteriormente.

En el caso de hacer reaccionar un halo-tiazol de la fórmula (VIII-B) con una amina o amina sustituida (por ejemplo, dimetilamina) la reacción en general se realiza al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (V-B) con la amina o amina sustituida opcionalmente en un solvente adecuado, tal como 2-propanol, dioxano, o dimetilformamida, a una temperatura de 25° C a 150°C, preferiblemente 50-90°C, opcionalmente en la presencia de un ácido adecuado, por ejemplo ácido clorhídrico.

10

De acuerdo con otro proceso para producir un tiazol sustituido de la fórmula (VIII), un compuesto de la fórmula (XI-A) se hace reaccionar con una tioamida, por ejemplo tioacetamida, para preparar un compuesto de la fórmula (VIII-D) en donde R^{3d} es alquilo:



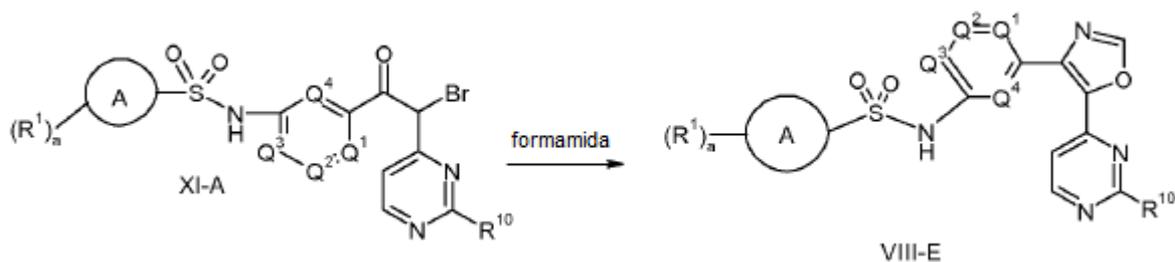
VIII-D

15 en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

Las tioamidas sustituidas con alquilo para uso en este proceso están comercialmente disponibles o se puede preparar utilizando técnicas convencionales. Normalmente, la reacción se lleva a cabo en un solvente apropiado, por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, o acetonitrilo, particularmente dimetilformamida o N,N-dimetilacetamida, opcionalmente en la presencia de una base adecuada, por ejemplo carbonato de magnesio o bicarbonato de sodio, y a una temperatura de 35-100°C, preferiblemente 50-80°C.

20

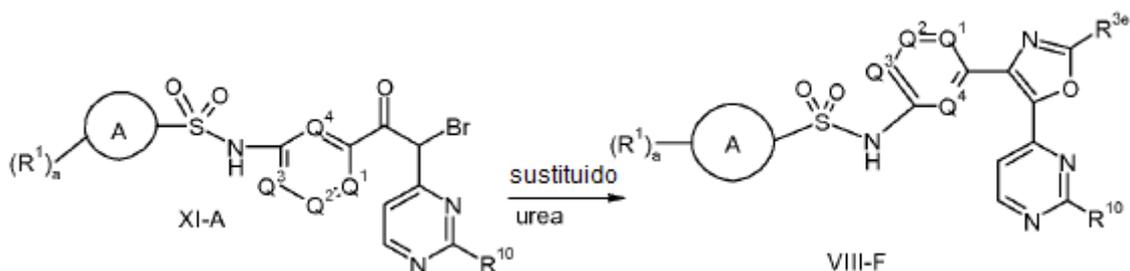
En la realización en donde se desea un oxazol de la fórmula (VIII) en donde R³ es H, la reacción se puede lograr al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XI-A) con formamida en la presencia de un ácido, tal como ácido sulfúrico, y a una temperatura de 60-150°C, preferiblemente 90-130°C:



VIII-E

25 en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

Un oxazol sustituido de la fórmula (VIII-F) se puede preparar a partir del compuesto de la fórmula (XI-A):



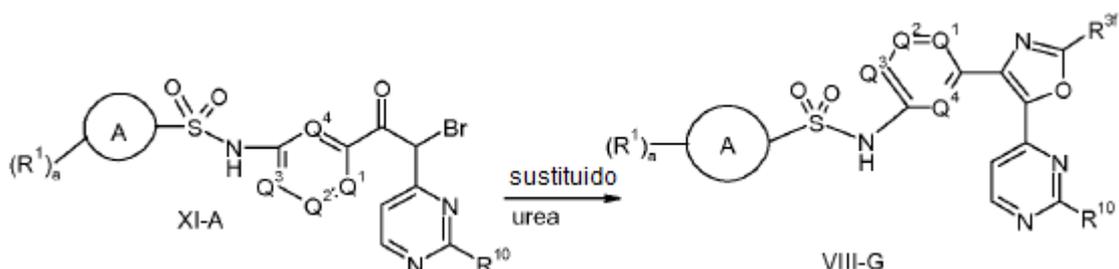
en donde

R^{3e} es Het o $-NR^6R^7$ y

5 todas las otras variables son como se definió anteriormente.

La reacción se puede llevar a cabo al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XI-A) con urea o urea sustituida en un solvente apropiado, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida diclorometano, tetrahidrofurano, dioxano, o acetonitrilo, opcionalmente en la presencia de una base adecuada, por ejemplo carbonato de magnesio o bicarbonato de sodio, y a una temperatura de 25-170°C, particularmente 60-150°C o en un reactor de microondas a una temperatura de 100-190° C, particularmente 120-160°C. Aquellos expertos en la técnica contemplarán que se pueden emplear ureas sustituidas en el método anterior para preparar compuestos de la fórmula (VIII-F) en donde R^{3e} es como se definió anteriormente. Un ejemplo de una urea sustituida para uso en este método es 1-pirrolidinacarboxamida. Las ureas sustituidas están disponibles comercialmente o se pueden hacer utilizando técnicas conocidas por aquellos expertos en la técnica.

15 Un oxazol sustituido de la fórmula (VIII-G), también se pueden preparar a partir de un compuesto de la fórmula (XI-A):



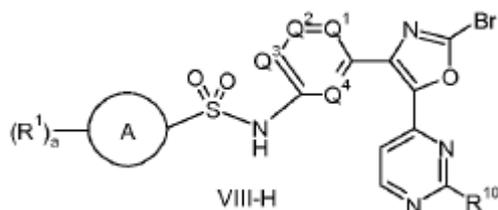
en donde

R^{3f} es alquilo o haloalquilo y

20 todas las otras variables son como se definió anteriormente.

Normalmente, la reacción se puede llevar a cabo al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XI-A) con una amida (es decir, un compuesto de la fórmula $R^{3f}-C(O)NH_2$), por ejemplo acetamida, en un solvente apropiado, por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, dimetilformamida, o acetonitrilo, particularmente dimetilformamida pura, opcionalmente en la presencia de una base adecuada, por ejemplo carbonato de magnesio o bicarbonato de sodio, y a una temperatura de 35-170°C, preferiblemente 60-150°C o en un reactor de microondas a una temperatura de 100-190°C, particularmente 130-170°C. Las amidas adecuadas para uso en esta reacción serán evidentes para aquellos expertos en la técnica y están comercialmente disponibles o se puede preparar utilizando técnicas convencionales.

Como se apreciará por aquellos expertos en la técnica un bromo-oxazol sustituido de la fórmula (VIII-H),

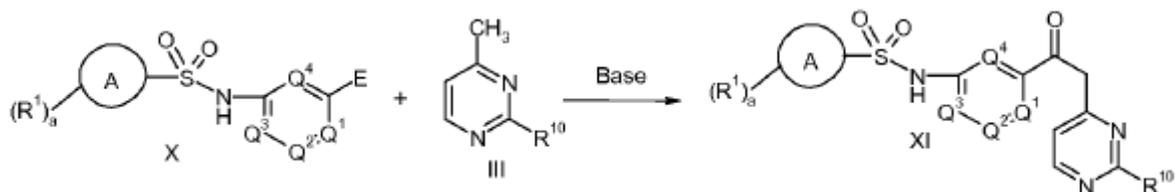


en donde todas las otras variables son como se definió anteriormente;

también se puede preparar mediante conversión de un oxazol de la fórmula (VIII-F) (en donde R³ es una amina o grupo amino sustituido) al análogo de bromo utilizando técnicas conocidas para aquellos expertos en la técnica, que incluyen aquellas descritas anteriormente.

Aquellos expertos en la técnica reconocerán que algunas de las reacciones descritas anteriormente pueden ser incompatibles con compuestos de la fórmula (VIII) en los que R¹⁰ es cloruro. En dichas realizaciones, las reacciones anteriores se puede realizar utilizando compuestos de la fórmula (XI) en donde R¹⁰ es tiometilo, y posteriormente convertir el tiometilo a un grupo saliente más adecuado, tal como un sulfóxido, sulfona o cloruro utilizando técnicas convencionales en la técnica, que incluyen aquellas descritas anteriormente.

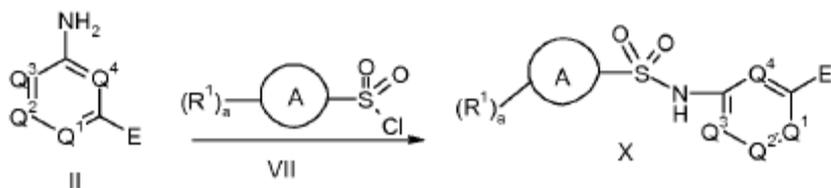
Los compuestos de la fórmula (XI) se puede preparar al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (X) con una pirimidina sustituida de la fórmula (III):



en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

La reacción en general se realiza al hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (X) y un compuesto de la fórmula (III) en la presencia de una base adecuada capaz de desprotonar un compuesto de la fórmula (III), por ejemplo hexametildisilazida de litio (LiHMDS), hexametildisilazida de sodio, o diisopropilamida de litio, particularmente LiHMDS, en un solvente apropiado, tal como THF, y a una temperatura de aproximadamente -78°C a aproximadamente 25°C, particularmente aproximadamente 0°C a aproximadamente 25°C.

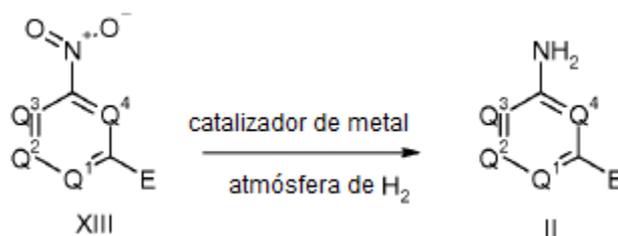
Un compuesto de la fórmula (X) se puede preparar al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (II) con un compuesto de la fórmula (VII):



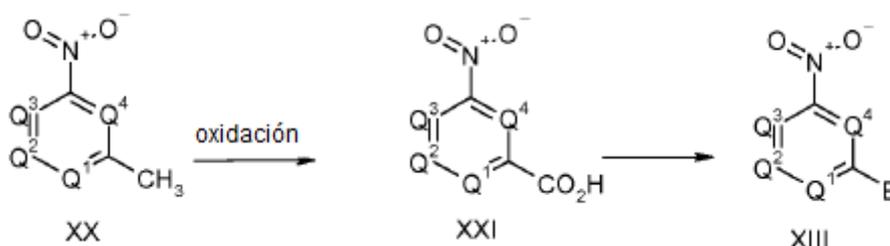
Esta reacción se puede llevar a cabo utilizando condiciones convencionales en la técnica para dichas reacciones de acoplamiento, que incluyen el uso de un solvente tal como tetrahydrofurano, 1,4-dioxano o diclorometano a temperatura ambiente o con calentamiento desde aproximadamente 40°C a aproximadamente 100°C. Aquellos expertos en la técnica reconocerán que puede ser deseable llevar a cabo esta reacción en la presencia de una base adecuada, por ejemplo piridina o trietilamina. Los compuestos de la fórmula (VII) están disponibles comercialmente o se pueden sintetizar utilizando técnicas convencionales en la técnica.

Los compuestos de la fórmula (II) en donde Q¹, Q², Q³ y Q⁴ son CH están disponibles comercialmente. Los compuestos de la fórmula (II) en donde uno de Q¹, Q², Q³ y Q⁴ es C-R² se puede preparar mediante reducción del compuesto de la fórmula (XIII). Las condiciones apropiadas para la reacción de reducción serán evidentes para aquellos expertos en la técnica e incluyen paladio sobre carbono bajo una atmósfera de hidrógeno, platino sulfurado sobre carbono bajo una atmósfera de hidrógeno, o polvo de hierro en ácido acético. En una realización, la reducción se puede efectuar utilizando níquel Raney bajo una atmósfera de hidrógeno. La reacción se puede llevar a cabo en

un solvente inerte a ya sea presión atmosférica o elevada. Los solventes inertes adecuados incluyen pero no se limitan a etanol, metanol, y acetato de etilo.

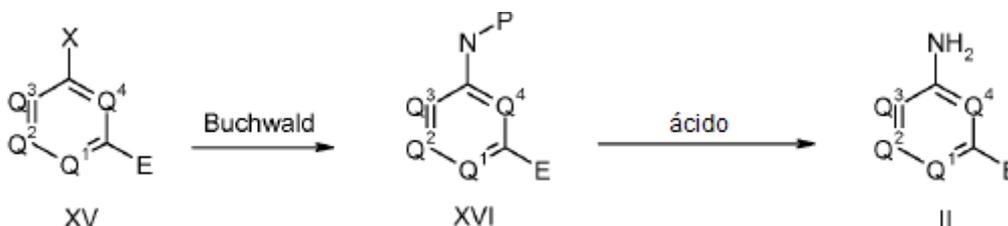


- 5 Los compuestos de la fórmula (XIII) se pueden preparar mediante oxidación del compuesto de la fórmula (XX) utilizando un agente de oxidación apropiado tal como pero no limitado a trióxido de cromo o permanganato de potasio para producir compuestos de la fórmula (XXI). En una realización, la reacción se realiza con trióxido de cromo bajo condiciones altamente ácidas tales como en la presencia de ácido sulfúrico. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 80°C a 100°C. Los compuestos de la fórmula (XXI) luego se pueden convertir a compuestos de la fórmula (XIII) mediante esterificación de la funcionalidad ácido utilizando condiciones estándar para dichas transformaciones, específicamente en metanol en la presencia de ácido sulfúrico catalítico:



en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

- 15 Alternativamente, los compuestos de la fórmula (II) en donde uno de Q¹, Q², Q³ y Q⁴ es C-R² se puede preparar mediante reacción del compuesto de la fórmula (XV) con una fuente de nitrógeno tal como benzofenona imina o carbamato de t-butilo utilizando condiciones convencionales en la técnica para reacciones de acoplamiento cruzado Buchwald. En particular, en la presencia de una fuente de paladio, opcionalmente un ligando de fosfina, y una base en un solvente inerte adecuado. Ejemplos de fuentes de paladio adecuadas incluyen pero no se limitan a tris(dibencilidenoacetona) dipaladio (0), diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) o acetato (2'-di-t-butilfosfino-1,1'-bifenil-2-il)paladio (II). Ejemplos de ligandos de fosfina adecuados incluyen pero no se limitan a 9,9-dimetil-4,5-
- 20 bis(difenilfosfino) xanteno y trifenilfosfina. Ejemplos de bases adecuadas incluyen pero no se limitan a acetato de potasio, carbonato de cesio, metóxido de sodio, y trietilamina. Ejemplos de solventes inertes adecuados incluyen pero no se limitan a tolueno, N,N-dimetilformamida o 1,4-dioxano. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 80°C a 150°C, opcionalmente en el microondas:



- 25 en donde

X es halo, particularmente Br;

P es nitrógeno protegido, particularmente benzofenona imina o carbamato de t-butilo; y

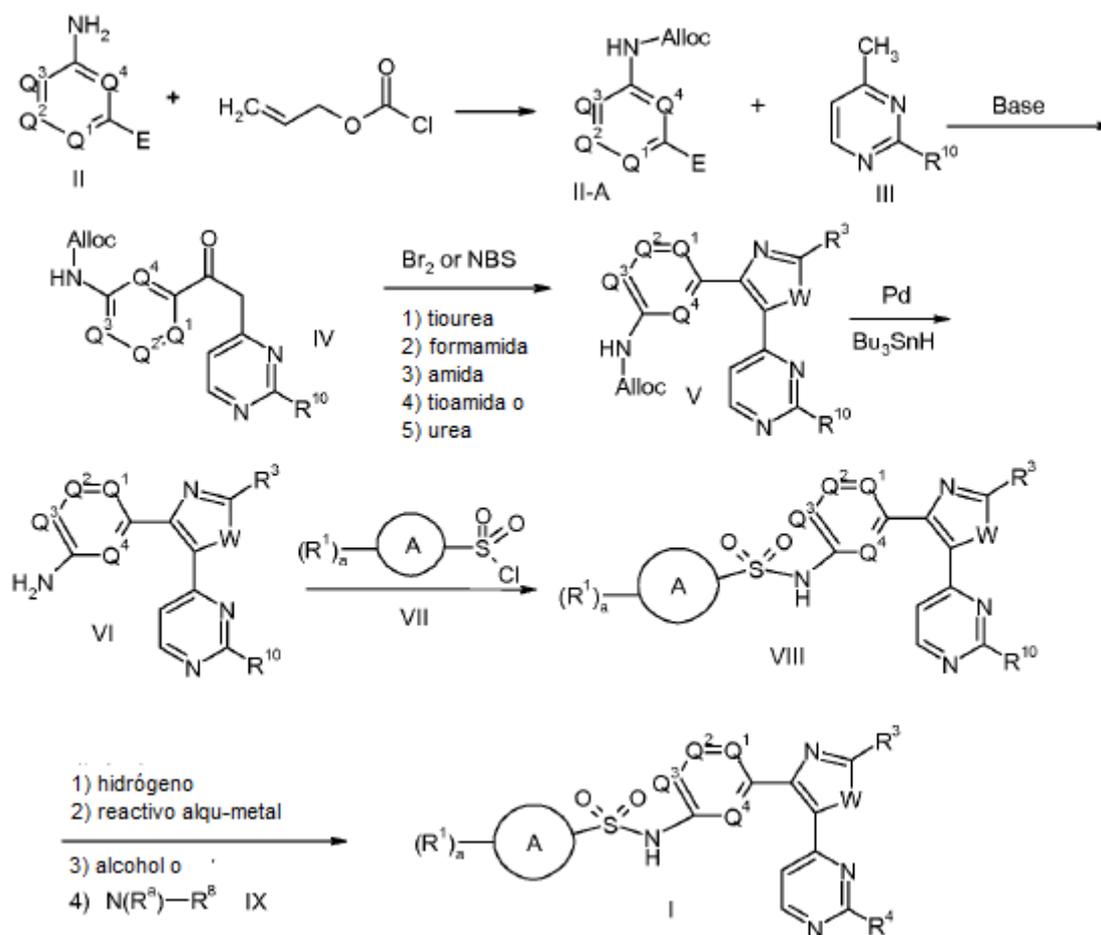
todas las otras variables son como se definió anteriormente.

- 30 Se puede lograr la conversión de los compuestos de la fórmula (XVI) a compuestos de la fórmula (II) mediante reacción con un ácido fuerte en un solvente orgánico adecuado utilizando técnicas de desprotección ácidas

convencionales. Los ácidos adecuados utilizados en dichas transformaciones incluyen pero no se limitan a ácido clorhídrico. Los solventes adecuados para dichas transformaciones incluyen pero no se limitan a tetrahidrofurano y 1,4-dioxano. Véase, Kocienski, P.J. *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994; and Greene, T.W., Wuts, P. G. M. *Protecting Groups in Organic Synthesis* (2nd Edition), J. Wiley and Sons, 1991.

- 5 Como se anotó anteriormente, el orden de las etapas anteriores no es crítica. En otra realización, los compuestos de la fórmula (I) también se pueden preparar de acuerdo con Esquema 2, que demuestra un orden alternativo de las etapas de Esquema 1.

Esquema 2



- 10 en donde:

R¹⁰ es halo (preferiblemente cloro) o tiometilo;

E es un éster carboxílico adecuado o equivalente de éster, particularmente un éster de metilo, éster de etilo, o amida de Weinreb;

Alloc es alilcloroformato;

- 15 Bu₃SnH es hidruo de estaño de tri-n-butilo; y

todas las otras variables son como se definió anteriormente.

El proceso de acuerdo con el Esquema 2 comprende las etapas de:

a) instalar un grupo protector tal como alilcloroformato, sobre un compuesto de la fórmula (II) para preparar un compuesto de la fórmula (II-A);

b) condensar el compuesto de la fórmula (II-A) con un compuesto de pirimidina sustituida de la fórmula (III) para preparar un compuesto de la fórmula (IV);

c) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (IV) con un agente de bromación adecuado seguido por uno de

i) una tiourea,

5 ii) una formamida,

iii) una amida,

iv) una tioamida, o

v) una urea;

para preparar un compuesto de la fórmula (V);

10 d) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (V) en la presencia de un catalizador de paladio para preparar un compuesto de la fórmula VI;

e) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (VI) con un compuesto de la fórmula (VII) para preparar un compuesto de la fórmula (VIII);

f) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (VIII) con uno de:

15 i) hidrógeno molecular

ii) un reactivo de metal alquilo o reactivo de metal alquénilo

iii) un alcohol, o

iv) un compuesto de la fórmula (IX),

para preparar un compuesto de la fórmula (I);

20 g) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

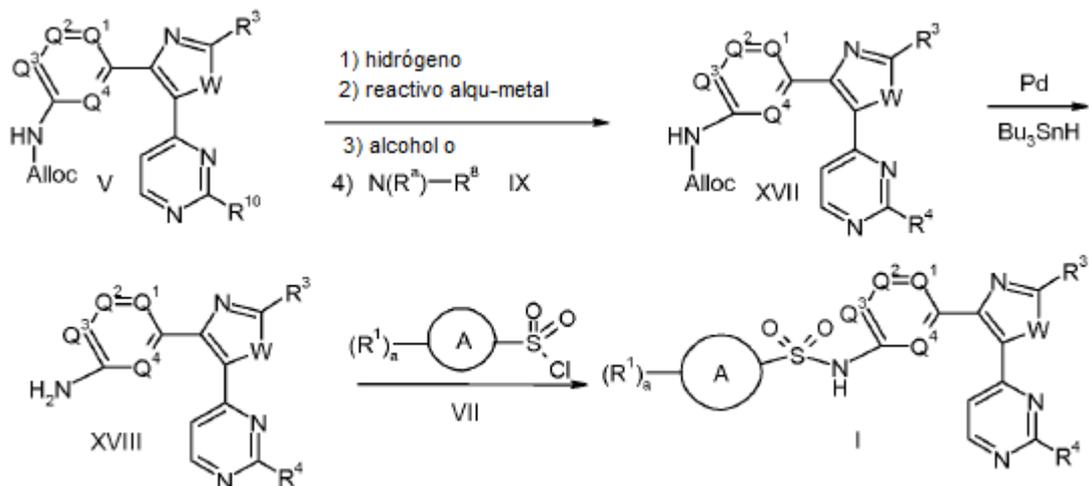
h) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un compuesto diferente de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 La instalación y eliminación del grupo protector Alloc se puede alcanzar utilizando medios convencionales. Por ejemplo, el compuesto de la fórmula (II) se puede hacer reaccionar con alilcloroformato utilizando condiciones de acilación convencionales para aquellos expertos en la técnica para la instalación de grupos protectores de carbamato. Se puede alcanzar la eliminación del grupo protector al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (V) con hidruro de tributilestaño en la presencia de un catalizador de Pd y ácido débil. En una realización diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) se utiliza junto con ácido acético. Se puede utilizar una variedad de solventes que incluyen pero no se limitan a diclorometano, tolueno, éter de dietilo, acetona y N,N-dimetilformamida. Véase, 30 Kocienski, P.J. Protecting Groups, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994; y Greene, T.W., Wuts, P. G. M. Protecting Groups in Organic Synthesis (2nd Edition), J. Wiley y Sons, 1991.

Las etapas restantes de la reacción se pueden llevar a cabo generalmente de la manera descrita anteriormente para las etapas análogas en el Esquema 1.

35 Como un ejemplo adicional para cambiar el orden de las etapas, los compuestos de la fórmula (I) también se pueden preparar de acuerdo con Esquema 3.

Esquema 3



en donde

R^{10} es halo (preferiblemente cloro) o tiometilo, y

5 todas las otras variables son como se definió anteriormente.

De manera general, el proceso para preparar los compuestos de la fórmula (I) de acuerdo con Esquema 3 (todas las fórmulas y todas las variables que se han definido anteriormente) comprende las etapas de:

a) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (V) con uno de:

i) hidrógeno molecular

10 ii) un alquilo o reactivo de metal alqueno

iii) un alcohol, o

iv) un compuesto de la fórmula (IX),

para preparar un compuesto de la fórmula (XVIII);

15 b) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XVII) en la presencia de un catalizador de paladio para preparar un compuesto de la fórmula (XVIII);

c) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (VII) para preparar un compuesto de la fórmula (I);

d) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

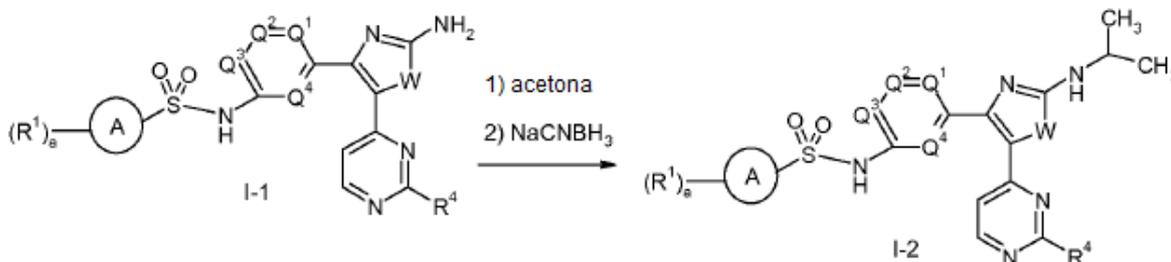
20 e) opcionalmente convertir el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un compuesto diferente de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Cada uno de las etapas anteriores se puede llevar a cabo usando las técnicas descritas más arriba para reacciones análogas con diferentes materiales de partida.

25 Se apreciará por aquellos expertos en la técnica que la elección óptima de la secuencia de reacción empleada para preparar un compuesto de la invención particular puede depender del compuesto específico de la invención que se desea así como también la preferencia y disponibilidad de materiales de partida.

Será evidente para aquellos expertos en la técnica, un compuesto de la fórmula (I) se puede convertir a otro compuesto de la fórmula (I) utilizando técnicas bien conocidas en el arte. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula

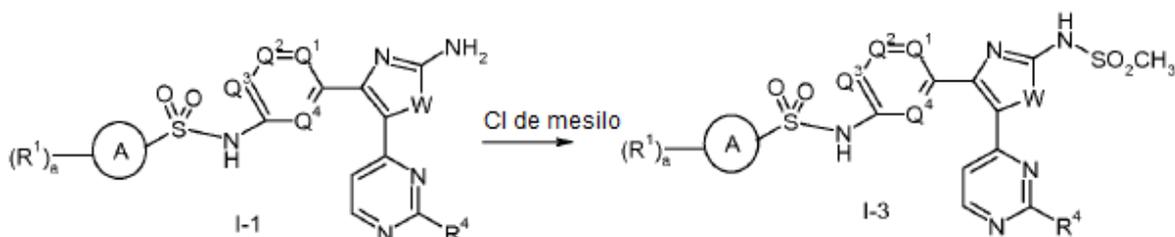
(I) se pueden modificar utilizando técnicas convencionales para modificar o diversificar los grupos definidos por la variable R^3 y de esta manera proporciona diferentes compuestos de la fórmula (I). Específicamente, un compuesto de la fórmula (I-1) (en donde R^3 es $-NH_2$) se puede convertir a un compuesto de la fórmula (I-2) mediante aminación reductora de la amina con acetona y cianoborohidruro de sodio:



5

en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

También se puede convertir un compuesto de la fórmula (I-1) a un compuesto de la fórmula (I-3) al hacerla reaccionar con cloruro de mesilo:



10 en donde todas las variables son como se definió anteriormente.

Con base en esta descripción y los ejemplos contenidos allí un experto en la técnica puede convertir fácilmente un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un compuesto diferente de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La presente invención también proporciona compuestos radiomarcados de la fórmula (I) y compuestos biotinilados de la fórmula (I) y versiones unidas a soporte sólido de los mismos, es decir un compuesto de la fórmula (I) que tiene una radiomarca o biotina unida a este. Se pueden preparar los compuestos radiomarcados de la fórmula (I) y los compuestos biotinilados de la fórmula (I) utilizando técnicas convencionales. Por ejemplo, se pueden preparar los compuestos radiomarcados de la fórmula (I) al hacer reaccionar el compuesto de la fórmula (I) con gas de tritio en la presencia de un catalizador apropiado para producir compuestos radiomarcados de la fórmula (I). En una
20 realización, se trititan los compuestos de la fórmula (I).

Los compuestos radiomarcados de la fórmula (I) y compuestos biotinilados de la fórmula (I) son útiles en ensayos para la identificación de compuestos que inhiben por lo menos una quinasa de la familia Raf, para la identificación de compuestos para el tratamiento de una afección capaz de ser tratada con un inhibidor de Raf, por ejemplo, para el tratamiento de neoplasmas susceptibles a tratamiento con un inhibidor de Raf. Dicho método de ensayo para
25 identificar dichos compuestos, comprende la etapa de específicamente unir un compuesto radiomarcado de la invención o un compuesto biotinilado de la invención a la proteína objetivo u homogenato celular. Más específicamente, los métodos de ensayo adecuados incluirán ensayos de unión de competición. Los compuestos radiomarcados de la invención y compuestos biotinilados de la invención y versiones unidas a soporte sólido de los mismos, también se pueden emplear en ensayos de acuerdo con los métodos convencionales en la técnica.

30 Los siguientes ejemplos están destinados solo para ilustración y no están destinados a limitar el alcance de la invención en ninguna forma. La invención se define por las reivindicaciones que siguen.

EJEMPLOS

35 Como se utiliza aquí, los símbolos y convenciones utilizados en estos procesos, esquemas y ejemplos son consistentes con aquellos utilizados en la literatura científica contemporánea, por ejemplo, the Journal of the American Chemical Society o the Journal of Biological Chemistry. En general se utilizan abreviaturas de una sola letra estándar o de tres letras para designar restos de aminoácidos, que se supone están en la configuración L a no

ES 2 576 684 T3

ser que se indique lo contrario. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, las siguientes abreviaturas se pueden utilizar en los ejemplos y en toda la especificación:

atm (atmósfera);	CHCl ₃ (cloroformo);
g (gramos);	mCPBA (ácido meta-cloroperbenzoico);
mg (miligramos);	DCC (diciclohexilcarbodiimida);
h (hora(s));	DCE (dicloroetano);
min (minutos);	DCM (CH ₂ Cl ₂ ; diclorometano);
Hz (Hertz);	DIEA (N,N-Diisopropiletilamina);
MHz (megahertz);	DMA (dimetil acetamida);
i. v. (intravenosa);	DMAP (4-dimetilaminopiridina);
L (litros);	DME (1,2-dimetoxietano);
mL (mililitros);	DMEM (medio Eagle modificado con Dulbecco)
μL (microlitros);	
M (molar);	DMF (N,dimetilformamida);
mM (milimolar);	DMSO (dimetilsulfóxido);
mol (moles);	EDC (clorhidrato de etilcarbodiimida);
mmol (milimoles);	EDTA (ácido etilendiaminatetraacético);
mp (punto de fusión);	Et (etilo; -CH ₂ CH ₃)
psi (libras por pulgada cuadrada);	EtOH (etanol);
rt (temperatura ambiente);	EtOAc (acetato de etilo);
TLC (cromatografía de capa fina);	FBS (suero bovino fetal);
T _r (tiempo de retención);	Fmoc (9-fluorenilmetoxycarbonilo);
RP (fase inversa);	HATU (O-(7-Azabenzotriazol-1-il-
H ₂ (hidrógeno);	hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametiluronio
N ₂ (nitrógeno);	
Ac (acetilo);	HCl (ácido clorhídrico)
ACN (acetonitrilo)	HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etano sulfónico);
Ac ₂ O (anhídrido acético);	
ATP (adenosin trifosfato);	Hex (hexanos);
BOC (tert-butiloxycarbonilo);	HOAc (ácido acético);

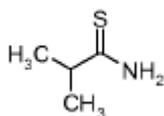
BSA (albúmina de suero bovina)

HPLC (cromatografía líquida de alto desempeño);	NaHSO ₄ (bisulfato de sodio);
	NBS es N-bromosuccinamida;
i-PrOH (isopropanol);	NH ₄ OH (hidróxido de sodio);
K ₂ CO ₃ (carbonato de potasio);	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ (cloruro de bis(trifenilfosfina)- paladio (II));
KOH (hidróxido de potasio);	
LiHMDS (hexametildisilazida de litio);	PdCl ₂ (dppf) aducto de diclorometano de (dicloro[1,1'-bis(difenil- fosfino)ferroceno]paladio (II)
LiOH (hidróxido de litio);	
LiOH·H ₂ O (monohidrato de hidróxido de litio);	TBAF (fluoruro de tetrabutilamonio);
Me (metilo; -CH ₃)	TEA (trietilamina);
MeOH (metanol);	TFA (ácido trifluoroacético);
MgCO ₃ (carbonato de magnesio);	THF (tetrahidrofurano);
MgSO ₄ (sulfato de magnesio);	TIPS (triisopropilsililo);
Na ₂ CO ₃ (carbonato de sodio);	TMS (trimetilsililo); y
NaHCO ₃ (bicarbonato de sodio);	TMSE (2-(trimetilsilil)etilo); y
NaH (hidruro de sodio)	TsOH (ácido p-Toluenosulfónico).
Na ₂ SO ₄ (sulfato de sodio);	

Todas las referencias a éter son a éter de dietilo; la solución salina se refiere a una solución acuosa saturada de NaCl. A menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en °C (grados centígrados). Todas las reacciones se llevan a cabo bajo una atmósfera inerte a temperatura ambiente a menos que se indique lo contrario.

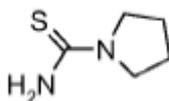
- 5 Los espectros de ¹H-RMN se registran en un instrumento Varian VXR-300, Varian Unity-300, Varian Unity-400, un General Electric QE-300, un Bruker 300, o un Bruker 400. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm, unidades δ). Las constantes de acoplamiento están en unidades de hertz (Hz). Los patrones de división describen multiplicidades aparentes y se designan como s (singlete), d (doblete), t (tripleto), q (cuarteto), m (multiplete), br (amplio).
- 10 Los espectros de masas de baja resolución (MS) se registran en un espectrómetro Agilent LCMS, JEOL JMS-AX505HA, JOEL SX-102, un SCIEX-APIiii, un Finnegan MSQ, Waters SQD, Waters ZQ, o un Finnegan LCQ; MS de alta resolución se obtuvieron utilizando un espectrómetro JOEL SX-102A. Todos los espectros de masas se tomaron bajo ionización por electrorrociado (ESI), ionización química (CI), impacto electrónico (EI) o por métodos de bombardeo con átomos rápidos (FAB). Todas las reacciones se monitorizan mediante cromatografía en capa fina
- 15 sobre placas de 0.25 mm de E. Merck de gel de sílice (60F-254), se visualizan con luz UV, solución de ácido p-anisaldehído o fosfomolibdico etanólico al 5% o espectrometría de masas (electrorrociado o AP). La cromatografía en columna ultrarrápida se realiza sobre gel de sílice (malla 230-400, Merck) o utilizando cromatografía de gel de sílice automatizada (Isco, Inc. Sq 16x o 100sg Combiflash). Se obtiene tiempos de retención de HPLC reportados (RT) en un instrumento Waters 2795 unido a un detector de diodos lectura 210-500 nm de Waters 996. La columna
- 20 utilizada fue una Synergi Max-RP (50 x 2 mm) modelo # 00B-4337-B0. El gradiente de disolvente fue de MeOH al 15%: agua a MeOH al 100% (ácido fórmico al 0.1%) durante 6 min. La velocidad de flujo fue 0.8 ml/min. El volumen de inyección fue de 3 µl.

Intermedio 1: 2-Metilpropanotioamida



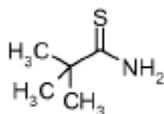
- 5 Una solución de 2-metilpropanamida (6.53 g, 75.0 mmol) y 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano- 2,4-disulfuro (15.17 g, 37.51 mmol) en THF (100 mL) se calienta a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción luego se enfría a temperatura ambiente y se vierte en NaHCO₃ acuoso saturado (200 mL). La mezcla se extrae con éter (4 x 100 mL). Las fracciones orgánicas se combinan, secan sobre Na₂SO₄, se filtran, y concentran. La purificación por cromatografía del columna flash (EtOAc al 20%:hexanos) proporciona 4.77 g (62%) del compuesto del título. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.63 (brs, 1 H), 6.90 (brs, 1 H), 2.88 (m, 1 H), y 1.27 (d, 6H, J= 6.8 Hz).

Intermedio 2: 1-Pirrolidinacarbotoamida



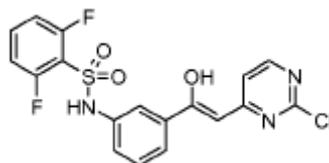
- 10 Para obtener el compuesto del título, pirrolidina (1.5 g, 21 mmol) se coloca en un matraz de fondo redondo bajo N₂ con agitación. Se agrega THF (4mL) seguido por la adición en forma de gotas de HCl 4N en dioxano (5.3 mL, 21 mmol). Luego se agrega tiocianato de Potasio (2.0 g, 21 mmol) en una porción a la solución de agitación de clorhidrato de pirrolidina. Esta mezcla luego se agita a temperatura ambiente durante 30 min seguido por calentamiento a 100°C durante 2 h. La reacción luego se enfría a temperatura ambiente, se agrega MeOH (50 mL), y los sólidos que persisten se filtran lejos. La concentración posterior de MeOH/ solución de reacción proporciona 3.0 g de la 1-pirrolidinacarbotoamida cruda. ¹H- RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.60 (brs, 2 H), 3.07 (m, 4 H), y 1.82 (m, 4 H).

Intermedio 3: 2,2-Dimetilpropanotioamida

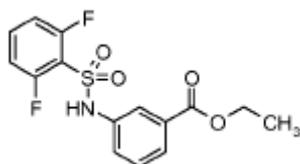


- 20 El compuesto del título se prepara (3.2 g, 36%) a partir de 2,2-dimetilpropanamida (7.59 g, 75.0 mmol) y 2,4- bis(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano-2,4-disulfuro (15.17 g, 37.51 mmol) mediante un procedimiento análogo al Intermedio 1. ¹H- RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (brs, 1 H), 7.03 (brs, 1 H), y 1.38 (s, 9 H).

Intermedio 4: N-{3-[(Z)-2-(2-Cloro-4-pirimidinil)-1-hidroxi-etil]fenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida



- 25 Etapa A: 3-[[2,6-difluorofenil]sulfonyl] amino}benzoato de etilo

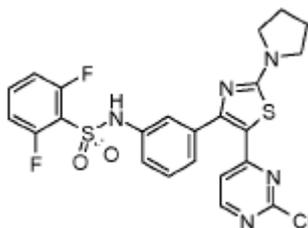


- 30 A una solución de etil-3-aminobenzoato (50 mL, 333 mmol) y cloruro de 2,6-difluorobencenosulfonyl (44.2 mL, 333 mmol) en DCM (300 mL) a 0°C se agrega piridina (32.2 mL, 400 mmol). La mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente, se agita durante 36 h, y se detiene con 2 mL de NH₃ (7 M en MeOH). La suspensión se lava con NaHSO₄ al 10% y los extractos orgánicos se combinan y pasan a través de una columna corta de gel de sílice. El material residual se enjuaga desde la columna con MeOH/EtOAc al 10%. Los extractos orgánicos se combinan y

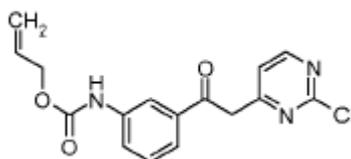
el solvente se elimina bajo presión reducida para proporcionar 107.9 g (95 %) del compuesto del título de la Etapa A. ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.20 (s, 1 H), 7.77 (s, 1 H), 7.71 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 7.63 (d, J = 7.3 Hz, 1 H), 7.35 - 7.49 (m, 2 H), 7.29 (t, J = 9.3 Hz, 2 H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), y 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3 H).

Etapa B: N-{3-[(Z)-2-(2-Cloro-4-pirimidinil)-1-hidroxietenil]fenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida

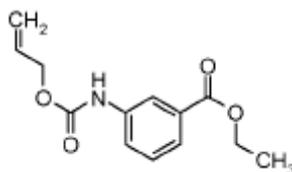
- 5 A una solución de agitación de 3-[[2,6-difluorofenil]sulfonil] amino}benzoato de etilo (47.9 g, 140 mmol) en 100 mL de THF anhidro a 0°C se agrega LiHMDS 1 M en THF (421 mL, 421 mmol). Una solución de 2-cloro-4-metilpirimidina (19.9 g, 154 mmol) en 100 mL de THF anhidro se agrega a la mezcla de reacción durante 30 min y se calienta a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se detiene con 50 mL de MeOH y concentra a un sólido negro bajo vacío. El residuo se somete a partición entre DCM y NaHSO₄ al 10%. Los sólidos acuosos y suspendidos se extraen
- 10 2X con DCM y los extractos orgánicos combinados se filtran a través de una almohadilla de Celita, se concentran, y pasan a través de una columna corta de gel de sílice (elución con THF) para proporcionar 57 g (96%) del compuesto del título de la Etapa B. ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.03 - 11.34 (m, 1 H), 8.49 - 8.91 (m, 1 H), 7.79 (d, J = 7.4 Hz, 1 H), 7.65 - 7.76 (m, 2 H), 7.55 - 7.63 (m, 1 H), 7.50 (t, J = 7.7 Hz, 1 H), 7.35 - 7.47 (m, 1 H), 7.22 - 7.34 (m, 2 H), 6.43 (s, 1 H), y 4.60 (s, 1 H); ES-LCMS m/z 423.93 (M+H).
- 15 Intermedio 5: N-{3-[5-(2-Cloro-4-pirimidinil)-2-(1-pirrolidinil)-1,3-tiazol-4-]fenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida



- A una suspensión agitada de N-{3-[(Z)-2-(2-cloro-4- pirimidinil)-1-hidroxietenil]fenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (1.0 g, 2.36 mmol, 1.0 eq) en DCM (~5 mL) se agrega NBS (0.44 g, 2.48 mmol, 1.05 eq). Luego de la formación de una solución roja (~10 minutos) la mezcla de reacción se concentra a un sólido y se toma en dioxano (10 mL). A esta
- 20 solución se agrega MgCO₃ (0.38 g) seguido por 1-pirrolidinacarbotoamida (0.384 g, 2.95 mmol, 1.25 eq). Después de agitación 3 h, la mezcla se detiene con agua (50 mL) y HCl 1 N (10 mL) y se agita 0.25 h. La mezcla se filtra y el sólido resultante se tritura con EtOAc/Hexanos para dar 0.52 g (41%) del compuesto del título. ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.11 (s, 1 H), 8.14 (d, J = 5.7 Hz, 1 H), 7.65 - 7.74 (m, 1 H), 7.41 (t, J = 7.7 Hz, 1 H), 7.18 - 7.29 (m, 5 H), 6.44 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 3.45 - 3.52 (m, 4 H), y 1.98 - 2.05 (m, 4 H).
- 25 Intermedio 6: 2-Propen-1-il{3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] fenil}carbamato



Etapa A: 3-[[2-propen-1-iloxi]carbonil] amino}benzoato de etilo



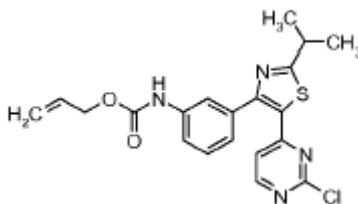
- Una solución de etil-3-aminobenzoato (25.0 g, 151.33 mmol) en DCM (500 mL) se enfría a 0°C. Se agrega 2,6-Lutidina (19.46 g, 181.60 mmol) a la solución seguido por adición de cloridocarbonato de 2-propen-1-ilo (20.07 g, 166.46 mmol). Luego de adición, la reacción se retira del baño de hielo y se agita a temperatura ambiente durante 30 min. La reacción se detiene con NaHCO₃ saturado y las capas se separan. La mezcla se extrae con DCM x 3, y los orgánicos combinados se lavan con HCl al 10%/H₂O x 3, se secan sobre MgSO₄ y el solvente se elimina para dar
- 30 el compuesto del título de la Etapa A (38.80 g, 80% de rendimiento). ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.96 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 7.66 - 7.72 (m, 1 H), 7.59 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), 7.43 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), 5.94 - 6.04 (m, 1 H), 5.37 (dd, J
- 35

= 17.4 y 1.7 Hz, 1 H), 5.24 (dd, J = 10.6 y 1.5 Hz, 1 H), 4.63 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 4.31 (q, J = 7.3 Hz, 2 H), y 1.31 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); ESI-MS m/z 250 (M+H).

Etapa B: 2-Propen-1-il{3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] fenil}carbamato

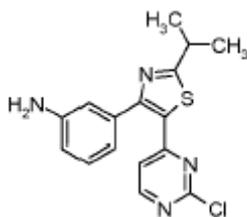
5 3-[(2-propen-1-iloxi)carbonil] amino]benzoato de etilo (20.0 g, 80.24 mmol) se disuelve en LiHMDS 1 M en THF (260 mL) y se enfría a 0°C. Una solución que contiene 2-cloro-4-metilpirimidina (10.32 g, 80.24 mmol) en 20 mL de THF seco se agrega a la mezcla de reacción. La reacción se agita a 0°C durante 2 h, se detiene con MeOH (100 mL), se seca directamente sobre sílice, y se purifica a través de cromatografía flash con EtOAc/CH₂Cl₂, gradiente 0-100% durante 60 min. Las fracciones deseadas se combinan y el solvente se elimina para dar el compuesto del título (13.6 g, 51% de rendimiento); ES-LCMS m/z 332 (M+H).

10 Intermedio 7: 2-Propen-1-il{3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1-metiletil)-1,3-tiazol-4-il]fenil} carbamato



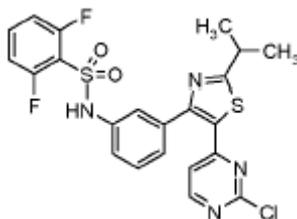
15 Siguiendo un procedimiento análogo al procedimiento descrito en Intermedio 5, utilizando 2-propen-1-il {3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] fenil}carbamato (10.0 g, 30.14 mmol), y 2-metilpropanoioamida (3.73 g, 36.17 mmol), se preparan mediante un procedimiento análogo al Intermedio 1, se obtiene 5.74 g del compuesto del título. MS (ESI): 415 [M+H]⁺.

Intermedio 8: 3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1-metiletil)-1,3-tiazol-4-il] anilina



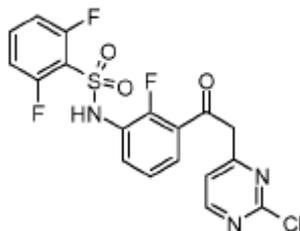
20 A una solución que contiene 2-propen-1-il {3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1-metiletil)-1,3-tiazol-4-il]fenil} carbamato (5.3 g, 12.77 mmol) y DCM (225 mL) se agrega hidruro de tri-n-butilestaño (5.95 g, 20.43 mmol), seguido por transdiclorobis(trifenilfosfina)paladio (II) (0.53 g, 0.64 mmol) y HOAc (1.84 g, 30.65 mmol). En la conclusión de la reacción, se agrega sílice y los volátiles se eliminan bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía del columna flash con (DCM al 84%, MeOH al 15%, y NH₄OH al 1%): DCM 0% a 100% para producir 3.4 g del compuesto del título. ¹H- RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.57 (d, J=5.1 Hz, 1 H), 7.16 (d, J=5.1 Hz, 1 H), 7.10 (t, J=7.7 Hz, 1 H), 6.72 - 6.75 (m, 1 H), 6.64 - 6.69 (m, 1 H), 6.60 - 6.63 (m, 1 H), 5.28 (s, 2 H), 3.27 - 3.40 (m, 1 H), y 1.38 (d, J=7.0 Hz, 6 H). MS (ESI): 331 [M+H]⁺.

25 Intermedio 9: N-{3-[5-(2-Cloro-4-pirimidinil)-2-(1- metiletil)-1,3-tiazol-4-il]fenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida

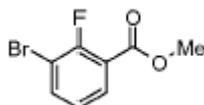


30 A una solución de 3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1- metiletil)-1,3-tiazol-4-il]fenil amina (1.0 g, 3.0 mmol), y piridina (360 μL, 4.5 mmol) en DCM (50 mL) se agrega una solución de cloruro de 2,6-difluorobencenosulfonilo (620 μL, 4.5 mmol) en DCM (25 mL). La reacción se agita durante 48 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentra, se adsorbe sobre gel de sílice, y se purifica a través de cromatografía flash con EtOAc/DCM al 0-50% para dar 1.39 g (91% de rendimiento) del compuesto del título como un polvo blanco. ES-LCMS m/z 507 (M+H).

Intermedio 10: N-{3-[(2-Cloro-4-pirimidinil)acetil]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida

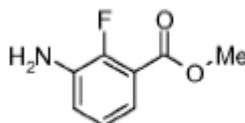


Etapa A: 3-bromo-2-fluorobenzoato de metilo



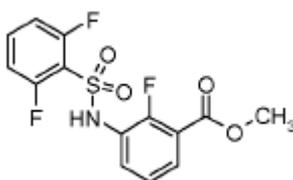
- 5 A un matraz de fondo redondo de 100 mL se agrega ácido 3-bromo-2- fluorobenzoico (10.4 g, 47.5 mmol), MeOH (100 mL, 2472 mmol) y ácido sulfúrico (6 mL, 113 mmol). La mezcla de reacción se somete a reflujo durante 1 hr. Después de enfriamiento a temperatura ambiente, el MeOH se elimina bajo presión reducida y el residuo ácido se vierte en agua fría y EtOAc, las capas se separan y la capa acuosa se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas se combinan, se lavan con solución salina, se secan sobre NaSO₄ y concentran bajo presión reducida para proporcionar 10.02 g de 3-bromo-2-fluorobenzoato de metilo. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.95 (ddd, J = 8.1, 6.4, y 1.7 Hz, 1 H), 7.82 - 7.87 (m, 1 H), 7.26 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), y 3.86 (s, 3 H).
- 10

Etapa B: 3-amino-2-fluorobenzoato de metilo



- 15 En un matraz de 500 se coloca carbamato de 1,1-dimetiletilo (6.03 g, 51.5 mmol), 3-bromo-2-fluorobenzoato de metilo (10 g, 42.9 mmol), Pd₂(dba)₃.CHCl₃(0.89 g, 0.86 mmol), xantphos (1.49 g, 2.57 mmol) y carbonato de cesio (16.8 g, 51.5 mmol). El matraz se sella con un tapón de caucho, se coloca bajo alto vacío, y se agrega tolueno (200 mL). Tres ciclos de alto vacío/N₂ se realizan y la mezcla de reacción se agita a 90°C durante la noche. La reacción se filtra a través de una almohadilla de celita con lavado de EtOAc y concentra. Al residuo se agrega DCM (200 mL) seguido por TFA (50 mL, 649 mmol), y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Los volátiles se eliminan bajo presión reducida y el residuo se toma en EtOAc y se lava con NaHCO₃ saturado y solución salina. La capa orgánica se seca sobre NaSO₄, se pela sobre sílice y se cromatografía en columna sobre sílice con EtOAc:Hexano al 5% a 50% para dar 5.53 g (76%) del compuesto del título de la Etapa B. ¹H- RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6.92 - 7.01 (m, 3 H), 5.37 (s, 2 H), y 3.81 (s, 3 H). MS (ESI): 170 [M+H]⁺.
- 20

Etapa C: 3-[(2,6-difluorofenil)sulfonil] amino}-2-fluorobenzoato de metilo

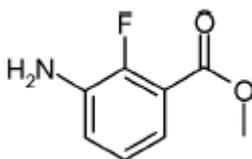


- 25 En un matraz de 500 mL se coloca 3-amino-2- fluorobenzoato de metilo (5.5 g, 32.5 mmol) y DCM (100 mL), y se agrega piridina (2.9 mL, 35.8 mmol). Se agrega cloruro de 2,6-Difluorobencenosulfonilo (7.6 g, 35.8 mmol) en DCM (50 mL) en forma de gotas a través de un túnel de adición y la mezcla de reacción se deja agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se separa sobre sílice y se cromatografía en columna sobre sílice con EtOAc:Hexano al 5% a 100% para dar 9.75 g (87%) del compuesto del título de la Etapa C. ¹H- RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.98 (s, 1 H), 7.64 - 7.82 (m, 3 H), 7.46 - 7.61 (m, 1 H), 7.29 (t, J = 8.8 Hz, 2 H), y 3.81 (s, 3 H). MS (ESI): 346 [M+H]⁺.
- 30

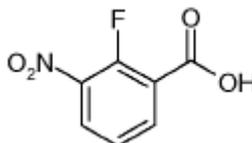
Etapa D: N-{3-[(2-Cloro-4-pirimidinil)acetil]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

5 En un matraz de 1000 mL se coloca 3-[[2,6-difluorofenil]sulfonil se agrega] amino)-2-fluorobenzoato de metilo (9.64 g, 27.9 mmol) y THF (200 mL). El matraz se coloca en un baño de hielo/agua y se agrega LiHMDS (90 mL, 90 mmol). Se agrega en forma de gotas 2-Cloro-4-metilpirimidina (4.5 g, 35.0 mmol) en THF (60 mL) a través de un túnel de adición. Después que se completa la adición, la reacción se deja calentar a 20°C durante 1 h. El volumen de THF se reduce hasta la mitad bajo presión reducida y luego se trata con HCl 6 N. Se agrega EtOAc y las capas se separan. La capa acuosa se extrae dos veces con EtOAc y la capa orgánica combinada se lava una vez con solución salina, se seca sobre NaSO₄, y concentra. El residuo se tritura con EtOAc/éter para proporcionar 8.71 g (71 %) del compuesto del título de la Etapa D. MS (ESI): 442 [M+H]⁺.

10 Método alternativo para preparar 3-amino-2-fluorobenzoato de metilo (Etapa B del Intermedio 10, anterior)



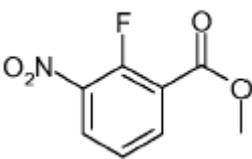
Etapa A: ácido 2-Fluoro-3-nitrobenzoico



15 Se agrega cuidadosamente ácido sulfúrico concentrado (195 ml) con agitación a una solución de 2-fluoro-3-nitrotolueno (100 g, 645 mmol) en ácido acético (1000 ml). La mezcla se calienta hasta 95°C y se agrega en forma de gotas la solución de trióxido de cromo (226 g, 2.25 mol) en agua (200 ml) con agitación durante 2h. Después de adición la mezcla se calienta con agitación durante otras 3h, se permite que se enfríe a temperatura ambiente y se vierte en agua (3 L). La mezcla se extrae con acetato de etilo (3 x 1 L), las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y concentran bajo presión reducida para proporcionar un sólido verde claro, que se lava con diclorometano (3 x 300 ml) y se seca bajo vacío para proporcionar el compuesto del título que se obtiene como un sólido amarillo claro (75 g, 62.8%). ¹H RMN (300MHz, DMSO) δ ppm 8.27 (m, 1H), 8.15 (m, 1H), 7.48 (m, 1H).

20

Etapa B: 2-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo



25 Ácido 2-Fluoro-3-nitrobenzoico (75 g) se disuelve en 300 ml de metanol, y luego se agrega 20 ml H₂SO₄ concentrado. La mezcla se agita a 70°C durante la noche y se enfría a temperatura ambiente, el sólido resultante se filtra y se lava con agua (3 x 200 ml), al filtrado se agrega agua (400 ml), el precipitado resultante se filtra y se lava con agua (2 x 100 ml) para proporcionar otra tanda de producto. Los sólidos se combinan y se secan bajo vacío para proporcionar el compuesto del título que se obtiene como un sólido amarillo claro (78 g, 96%).

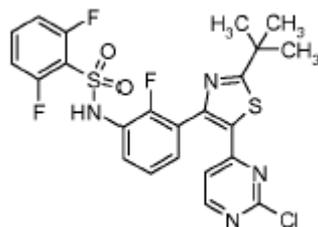
30

Etapa C: 3-amino-2-fluorobenzoato de metilo

30 A una solución de 2-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (78 g) en THF (400 ml) y metanol (100 ml) se agrega Ni Raney (40 g), la mezcla se calienta a 70°C, y luego 25 ml de hidrato de hidrazina (N₂H₄·H₂O, 85%) se agrega en forma de gotas. La reacción se monitoriza por TLC, cuando el material de partida se consume totalmente la adición de hidrazina se detiene. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y filtra, el filtrado se concentra bajo vacío para dar un aceite marrón, que se purifica mediante cromatografía (SiO₂, 300-400 mesh, PE: EtOAc=11:2) para proporcionar el compuesto del título que se obtiene como un aceite amarillo (45 g, 68%). ¹H RMN (300MHz, DMSO) δ ppm 6.96 (m, 3H), 5.36 (s, 2H), 3.81 (s, 3H).

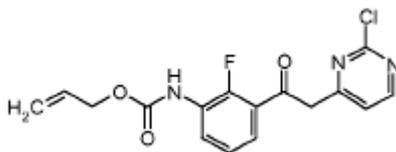
35

Intermedio 11: N-{3-[5-(2-Cloro-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

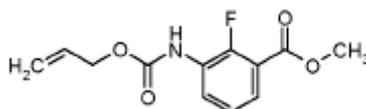


5 A una solución de N-{3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] -2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (2.0 g, 4.53 mmol) en 40 mL de DMA, se agrega 1.0 eq. De NBS (0.806 g, 4.53 mmol) y la solución se deja agitar 15 min a temperatura ambiente. Luego se agrega 2,2-dimetilpropanoatoamida (0.531 g, 4.53 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calienta a 60°C durante 2 horas. La reacción no se completa mediante LC-MS. La mezcla de reacción luego se calienta a 80°C durante una hora adicional. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae x 2 con EtOAc. Los lavados de EtOAc combinados se lavan con agua x 3 para eliminar DMA, se secan sobre MgSO₄, filtran y concentran sobre gel de sílice. El material crudo se cromatografía en EtOAc al 10-80% en Hexanos para dar el producto deseado, 1.6 g (64%). MS (ESI): 539.1 [M+H]⁺.

Intermedio 12: 2-Propen-1-il{3-[(2-cloro-4- pirimidinil)acetil] -2-fluorofenil} carbamato



Etapa A: 3-(aliloxicarbonilamino)-2-fluorobenzoato de metilo

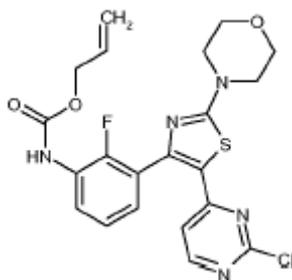


15 A una solución de 3-amino-2-fluorobenzoato de metilo (200.0 g, 1183 mmol, 1 eq) en THF (500 mL), se agrega NaHCO₃ saturado (1600 mL). Luego se agrega en forma de gotas cloridocarbonato de 2-propen-1-ilo (170.0 g, 1420 mmol, 1.2 eq) a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 h. La solución se extrae con EtOAc (1 L x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua y solución salina de forma sucesiva, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y concentran bajo presión reducida para dar el producto crudo (260 g, 86.9% de rendimiento), que se utiliza en la siguiente etapa directamente. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.66 (s, 1 H), 7.96 (t, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.64 (t, J = 6.4 Hz, 1 H), 7.33 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.07-6.00 (m, 1 H), 5.43 (dd, J = 1.6, 17.6 Hz, 1 H), 5.30 (dd, J = 1.2, 10.4 Hz, 1 H) 4.67 (d, J = 5.6 Hz, 2 H), 3.91 (s, 3 H).

Etapa B: {3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] -2-fluorofenil}carbamato de 2-Propen-1-ilo

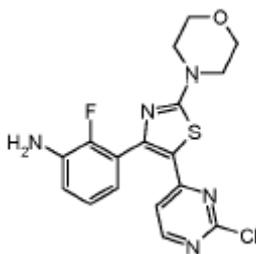
25 A una solución de 3-(aliloxicarbonilamino)-2-fluorobenzoato de metilo (86.7g, 342 mmol, 1 eq) en THF seco (500 mL) a -10°C, se agrega en forma de gotas LiHMDS (1 M en THF, 1198 mmol, 1198 mL, 3.5 eq) y la solución se deja agitar durante 1 h a 0°C. Luego se agrega en forma de gotas una solución de cloruro pirimidina (48.0 g, 376 mmol, 1.2 eq) en THF (200 mL) a la solución de éster y base a 0°C durante 20 min. La solución se deja agitar 1 h a temperatura ambiente. El TLC muestra que la reacción se completa. La reacción se detiene mediante adición de NH₄Cl acuoso saturado (800 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se extrae con EtOAc (1 L x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua y solución salina de forma sucesiva, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y concentran bajo presión reducida para dar el producto crudo, que se purifica mediante columna flash sobre gel de sílice, enjuagando con DCM. Está solución se concentra para obtener un sólido. El sólido naranja se tritura con una pequeña cantidad de EtOAc y filtra, enjuagando con éter de dietilo para dar el producto (240.1 g, 67.0%, tres tandas combinadas). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13.70 (s, 1 H), 8.52 (dd, J = 0.8, 4.8 Hz, 0.3 H), 8.34 (dd, J = 0.8, 5.2 Hz, 1 H), 8.27 (s, 0.4 H), 8.10 (s, 1 H), 7.47 (t, J = 8.0 Hz, 1.4 H), 7.22-7.12 (m, 1.8 H), 6.96 (s, 1.4 H), 6.85 (d, J = 4.2 Hz, 1 H), 6.07 (s, 1 H), 5.97-5.86 (m, 1.4 H), 5.32 (d, J = 15.6 Hz, 1.4 H), 5.24 (d, J = 6.4 Hz, 1.4 H), 4.64 (d, J = 6.0 Hz, 2.8 H), 4.38 (d, J = 2.8 Hz, 0.8 H).

Intermedio 13: {3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)-1,3-tiazol-4-il] -2-fluorofenil}carbamato de 2-Propen-1-ilo



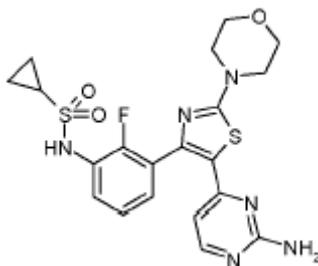
- 5 A una solución de {3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil] -2-fluorofenil} carbamato de 2-propen-1-ilo (20 g, 57 mmol) (Intermedio 12) en DMA (300 mL), se agrega NBS (10.2 g, 57 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Luego se agrega morfolina-4-carbotioamida (9.2 g, 63 mmol) a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se vierte en agua y se extrae con EtOAc (1 L x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua y solución salina de forma sucesiva, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y concentran bajo presión reducida para dar el producto crudo, que se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (DCM: éter de petróleo 2:1) para proporcionar el compuesto del título (20 g, 83.5% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.20-8.27 (m, 1H), 8.19 (d, J=5.5 Hz, 1H), 7.20-7.26 (m, 1H), 7.08-7.12 (m, 1H), 6.92-6.98 (br, 1H), 6.62 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 5.90-6.03 (m, 1 H), 5.25-5.41 (m, 2H), 5.65-5.70 (m, 2H), 3.57-3.63 (m, 4H), 3.77-3.86 (m, 4H). m/z (ES+): 476 [M+H]⁺
- 10

Intermedio 14: 3-(5-(2-Cloropirimidin-4-il)-2-morfolinotiazol-4-il)-2-fluoroanilina

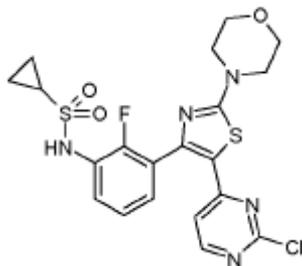


- 15 A una solución de {3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} carbamato de 2-propen-1-ilo (57 g, 120 mmol) (preparada mediante un proceso análogo a aquel descrito para el Intermedio 13) en DCM (500 mL), se agregan HOAc (17.3 g, 288 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (1.68 g, 2.4 mmol). Luego se agrega en forma de gotas hidruro de tri-n-butilestaño (38.4 g, 132 mmol) a la mezcla a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 30 min. La reacción se detiene al agregar NaHCO₃ saturado (300 mL) lentamente. Las dos capas se separan. La capa acuosa se extrae con DCM (1 L x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua y solución salina de forma sucesiva, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y concentran bajo presión reducida para dar el producto crudo, que se lava con éter de petróleo (500 mL) para proporcionar el compuesto del título (43 g, 91.6% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.15 (d, J=5.5 Hz, 1H), 6.95-7.07 (m, 1 H), 6.83-6.92 (m, 1 H), 6.74-6.80 (m, 1 H), 6.70 (d, J=5.5 Hz, 1 H), 3.57-3.63 (m, 4H), 3.75-3.88 (m, 4H) .
- 20

- 25 **Ejemplo de Referencia A:** N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} ciclopropanosulfonamida



EtapA A: N-{3-[5-(2-Cloro-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)- 1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} ciclopropanosulfonamida

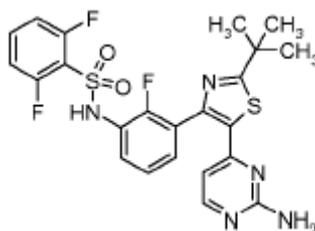


5 Siguiendo un procedimiento análogo a el procedimiento descrito en Intermedio 9 utilizando 3-(5-(2-cloropirimidin-4-il)-2-morfolinotiazol-4-il)-2-fluoroanilina (150 mg, 0.383 mmol) y cloruro de ciclopropanosulfonilo (0.039 mL, 0.383 mmol) el compuesto del título de la Etapa A se obtiene como un sólido amarillo (125 mg, 66% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.71 (s, 1 H), 8.27 - 8.39 (m, 1 H), 7.54 (td, J=7.6, 1.7 Hz, 1 H), 7.22 - 7.42 (m, 2 H), 6.62 - 6.72 (m, 1 H), 5.30 (s, 1 H), 3.68 (t, J=4.7 Hz, 4 H), 3.52 (t, J=4.6 Hz, 4 H), 2.59 - 2.70 (m, 1 H), 0.75 - 0.93 (m, 3 H).

Etapa B: N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} ciclopropanosulfonamida

10 Una suspensión de N-{3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(4-morfolinil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil} ciclopropanosulfonamida (125 mg, 0.252 mmol) y amoníaco 7M en MeOH (7 mL, 49 mmol) se calienta en un tubo sellado a 80°C durante 2 días. La reacción se diluye con DCM y se agrega gel de sílice y se concentra. El producto
 15 crudo se cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con DCM al 100% a 1:1 [DCM:(9:1 EtOAc:MeOH)]. Las fracciones limpias se concentran para producir el producto crudo como un sólido amarillo (62 mg). El producto crudo se vuelve a purificar mediante HPLC de fase inversa (un gradiente de acetonitrilo:agua con TFA al 0.1% en ambos). Las fracciones limpias combinadas se concentran luego se someten a partición entre DCM y NaHCO₃ saturado. La capa de DCM se separa y se seca sobre Na₂SO₄. El compuesto del título se obtiene como un sólido amarillo (26 mg, 21% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.67 (s, 1 H), 7.86 (d, J=5.4 Hz, 1 H), 7.49 (td, J=7.4, 2.2 Hz, 1 H), 7.11 - 7.38 (m, 2 H), 6.53 (s, 2 H), 5.84 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 3.68 (t, J=4.7 Hz, 4 H), 3.43 (t, J=4.7 Hz, 4 H),
 20 2.53 - 2.68 (m, 1 H), 0.74 - 0.92 (m, 4 H). MS (ESI): 477.0 [M+H]⁺.

Ejemplo 1a: N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

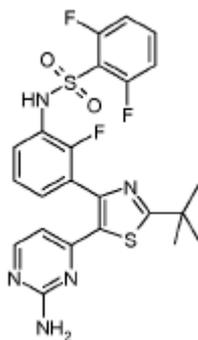


25 Siguiendo un procedimiento análogo a el procedimiento descrito en el Ejemplo de Referencia A, Etapa B utilizando N-{3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (196 mg, 0.364 mmol) y amoníaco en metanol 7M (8 ml, 56.0 mmol) y calentando a 90°C durante 24 h, se obtiene el compuesto del título, N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (94 mg, 47% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.83 (s, 1 H), 7.93 (d, J=5.2 Hz, 1 H), 7.55 - 7.70 (m, 1 H), 7.35 - 7.43 (m, 1 H), 7.31 (t, J=6.3 Hz, 1 H), 7.14 - 7.27 (m, 3 H), 6.70 (s, 2 H), 5.79 (d, J=5.13 Hz, 1 H), 1.35 (s, 9 H). MS (ESI): 519.9 [M+H]⁺.

Ejemplo 1b: N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

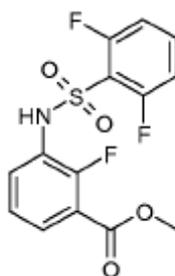
35 19.6 mg de N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (se puede preparar de acuerdo con el Ejemplo 1a) se combina con 500 μL de acetato de etilo en un frasco de 2 mL a temperatura ambiente. La suspensión se alterna a temperatura entre 0-40°C durante 48 horas. La suspensión resultante se deja enfriar a temperatura ambiente y los sólidos se recolectan mediante filtración de vacío. Los sólidos se analizan mediante análisis Raman, PXRD, DSC/TGA, que indican una forma diferente de la forma de cristal resultante del Ejemplo 1a, anterior.

Ejemplo 1c: N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida



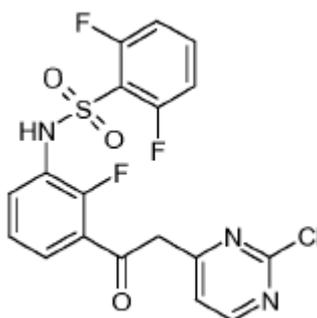
Etapa A: 3-[(2,6-difluorofenil)sulfonyl] amino}-2-fluorobenzoato de metilo

5



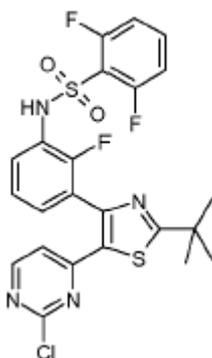
3-amino-2-fluorobenzoato de metilo (50 g, 1 eq) se carga al reactor seguido por diclorometano (250 mL, 5 vol). Los contenidos se agitan y se enfrían a $\sim 15^{\circ}\text{C}$ y se agrega piridina (26.2 mL, 1.1 eq). Después de la adición de la piridina, los contenidos del reactor se ajustan a $\sim 15^{\circ}\text{C}$ y la adición de cloruro de 2,6-difluorobencenosulfonyl (39.7 mL, 1.0 eq) se inicia a través de un túnel de adición. La temperatura durante la adición se mantiene $< 25^{\circ}\text{C}$. Después de que se completa la adición, los contenidos del reactor se calientan a $20-25^{\circ}\text{C}$ y se conservan durante la noche. Se agrega acetato de etilo (150 mL) y se elimina el diclorometano mediante destilación. Una vez se completa la destilación, la mezcla de reacción luego se diluye una vez más con acetato de etilo (5 vol) y se concentra. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo (10 vol) y agua (4 vol) y los contenidos se calientan a $50-55^{\circ}\text{C}$ con agitación hasta que todos se disuelven. Las capas se sedimentan y separan. La capa orgánica se diluye con agua (4 vol) y los contenidos se calientan a $50-55^{\circ}\text{C}$ durante 20-30 min. Las capas se sedimentan y luego se separan y la capa de acetato de etilo se evapora bajo presión reducida a ~ 3 volúmenes. Se agrega acetato de etilo (5 vol.) y de nuevo se evapora bajo presión reducida a ~ 3 volúmenes. Luego se agrega Ciclohexano (9 vol) al reactor y los contenidos se calientan a reflujo durante 30 min luego se enfrían a 0°C . Los sólidos se filtran y enjuagan con ciclohexano (2 x 100 mL). Los sólidos se secan al aire durante la noche para obtener 3-[(2,6-difluorofenil)sulfonyl] amino}-2-fluorobenzoato de metilo (94.1 g, 91%).

Etapa B: N-{3-[(2-Cloro-4-pirimidinil)acetil] -2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida



3-[[2,6-difluorofenil]sulfonil] amino}-2-fluorobenzoato de metilo (490 g, 1 equiv.), preparado de manera general de acuerdo con la Etapa A, anterior, se disuelve en THF (2.45 L, 5 vols) y se agita y se enfría a 0-3°C. Se carga solución de bis(trimetilsilil) amida de litio 1M en THF (5.25 L, 3.7 equiv.) a la mezcla de reacción seguida por adición de 2-cloro-4- metilpirimidina (238 g, 1.3 equiv.) en THF (2.45 L, 5 vols). La reacción luego se agita durante 1 hr. La reacción se detiene con HCl 4.5M (3.92 L, 8 vols). La capa acuosa (capa inferior) se elimina y desecha. La capa orgánica se concentra bajo presión reducida a ~2L. Se agrega IPAC (acetato de isopropilo) (2.45 L) a la mezcla de reacción que luego se concentra a ~2L. Se agrega IPAC (0.5 L) y MTBE (2.45 L) y se agita durante la noche bajo N₂. Los sólidos se filtran. Los sólidos y el filtrado madre se agregan de nuevo y se agitan durante varias horas. Los sólidos se filtran y se lavan con MTBE (~5 vol). Los sólidos se colocan en un horno de vacío a 50°C durante la noche. Los sólidos se secan en el horno de vacío a 30°C durante el fin de semana para obtener N-{3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (479 g, 72%).

Etapa C: N-{3-[5-(2-Cloro-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida



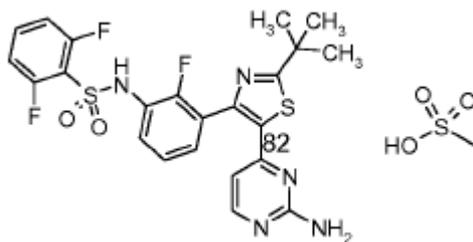
15 En un recipiente de reactor se carga N-{3-[(2-cloro-4-pirimidinil)acetil]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (30 g, 1 eq) seguido por diclorometano (300 mL). La suspensión de reacción se enfría a ~10°C y se agrega N-bromosuccinimida ("NBS") (12.09 g, 1 eq) en 3 porciones aproximadamente iguales, agitación durante 10-15 minutos entre cada adición. Después de la adición final de NBS, la mezcla de reacción se calienta a ~20°C y se agita durante 45 min. Luego se agrega agua (5 vol) al recipiente de reacción y la mezcla se agita y luego las capas se separan. Se agrega de nuevo agua (5 vol) a la capa de diclorometano y la mezcla se agita y las capas se separan. Las capas de diclorometano se concentran a ~120 mL. Se agrega acetato de etilo (7 vol) a la mezcla de reacción y concentra a ~120 mL. Luego se agrega dimetilacetamida (270 mL) a la mezcla de reacción y se enfría a ~10°C. Se agrega 2,2-Dimetilpropanoatoamida (1.3 g, 0.5 eq) en 2 porciones iguales a los contenidos del reactor con agitación durante ~5 minutos entre adiciones. La reacción se calienta a 20-25°C. Después de 45 min, los contenidos del recipiente se calientan a 75°C y se conservan durante 1.75 horas. La mezcla de reacción luego se enfría a 5°C y agua (270 ml) se cargan lentamente manteniendo la temperatura por debajo de 30°C. Luego se carga acetato de etilo (4 vol) y la mezcla se agita y capas se separan. Se carga de nuevo acetato de etilo (7 vol) a la capa acuosa y los contenidos se agitan y se separan. Se carga de nuevo acetato de etilo (7 vol) a la capa acuosa y los contenidos se agitan y se separan. Las capas orgánicas se combinan y se lavan con agua (4 vol) 4 veces y se agitan durante la noche a 20-25°C. Las capas orgánicas luego se concentran bajo calor y vacío a 120 mL. Los contenidos del recipiente luego se calientan a 50°C y se agregan lentamente heptanos (120 mL). Después de la adición de heptanos, los contenidos del recipiente se calientan a reflujo luego se enfrían a 0°C y se conservan durante ~2 horas. Los sólidos se filtran y enjuagan con heptanos (2 x 2 vol). El producto sólido luego se agrega bajo vacío a 30°C para obtener N-{3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (28.8 g, 80%).

35 Etapa D: N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

En un reactor de presión de 1 gal, una mezcla de N-{3-[5-(2-cloro-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida (120 g) preparada de acuerdo con Etapa C, anterior, y hidróxido de sodio (28-30%, 2.4 L, 20 vol) se calienta en el reactor a presión sellado a 98-103°C y se agita a esta temperatura durante 2 horas. La reacción se enfría lentamente a temperatura ambiente (20°C) y se agita durante la noche. Los sólidos se filtran y se lavan con cantidad mínima del licor madre y se secan bajo vacío. Los sólidos se agregan a una mezcla de EtOAc (15 vol)/ agua (2 vol) y se calientan hasta completar disolución a 60-70°C y la capa acuosa se elimina y se desecha. La capa de EtOAc se carga con agua (1 vol) y se neutraliza con HCl ac. a ~pH 5.4-5.5. y se agrega agua (1 vol). La capa acuosa se elimina y se descarga a 60-70°C. La capa orgánica se lava con agua (1 vol) a 60-70°C y la capa acuosa se elimina y se descarga. La capa orgánica se filtra a 60°C y se concentra a 3 volúmenes. Se carga EtOAc (6 vol) en la mezcla y se calienta y se agita a 72°C durante 10 min, luego se enfría a

20°C y se agita durante la noche. Se elimina EtOAc a través de destilación por vacío para concentrar mezcla de reacción a ~3 volúmenes. La mezcla de reacción se mantiene a -65-70°C durante ~30 mins. Se cargan los cristales del producto que tienen la misma forma de cristal como aquellas preparadas en el Ejemplo 1 b (y que se pueden preparar mediante el procedimiento del Ejemplo 1 b), anterior, en suspensión de heptanos. Se agrega lentamente el heptano (9 vol) a 65-70°C. La suspensión se agita a 65-70°C durante 2-3 horas y luego se enfría lentamente a 0-5°C. El producto se filtra, se lava con EtOAc/heptano (3/1 v/v, 4 vol) y se seca a 45°C bajo vacío para obtener N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (102.3 g, 88%).

Ejemplo 1d: metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida



A una solución de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (204 mg, 0.393 mmol) en isopropanol (2 mL), se agrega ácido metanosulfónico (0.131 mL, 0.393 mmol) y la solución se deja agitar a temperatura ambiente durante 3 horas. Se forma un precipitado blanco y la suspensión se filtra y enjuaga con éter de dietilo para dar el producto del título como un sólido cristalino blanco (210 mg, 83% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10.85 (s, 1 H) 7.92 - 8.05 (m, 1 H) 7.56 - 7.72 (m, 1 H) 6.91 - 7.50 (m, 7 H) 5.83 - 5.98 (m, 1 H) 2.18 - 2.32 (m, 3 H) 1.36 (s, 9 H). MS (ESI): 520.0 [M+H]⁺.

Ejemplo 1e: metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida

N-{3-[5-(2-Amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (que se puede preparar de acuerdo con el Ejemplo 1 a) (2.37 g, 4.56 mmol) se combina con acetonitrilo pre-filtrado (5.25 vol, 12.4 mL). Una solución pre-filtrada de ácido méxico (1.1 eq., 5.02 mmol, 0.48 g) en H₂O (0.75 eq., 1.78 mL) se agrega a 20°C. La temperatura de la mezcla resultante se eleva a 50-60°C mientras que se mantiene una velocidad de agitación baja. Una vez la temperatura de la mezcla alcanza a 50-60°C, se agrega una suspensión de semilla de metanosulfonato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida (1.0%V p/p suspendida en 0.2 vol de acetonitrilo pre-filtrado), y la mezcla se madura agitando a una velocidad muy rápida para mantener los sólidos de la sedimentación a 50-60°C durante 2 hr. La mezcla luego se enfría a 0-5°C a 0.25°C/min y se conserva a 0-5°C durante a 6 hr. La mezcla se filtra y la torta de filtro se lava dos veces con acetonitrilo pre-filtrado. El primer lavado consiste de 14.2 ml (6 vol) de acetonitrilo pre-filtrado y el segundo lavado consiste de 9.5 ml (4 vol) de acetonitrilo pre-filtrado. El sólido húmedo se seca a 50°C bajo vacío, produciendo 2.39 g (85.1% de rendimiento) del producto.

Ejemplos biológicos

Los compuestos de fórmula (I) se ensayaron para determinar la actividad inhibidora de la proteína B-Raf quinasa en ensayos de fosforilación de sustrato y ensayos de proliferación celular.

A. Ensayo enzimático de B-Raf:

Los compuestos de fórmula (I) se ensayaron para determinar la actividad inhibidora de proteína B-Raf serina quinasa en un ensayo de MEK ATPasa de B-Raf acelerado (BRAMA). El BRAF V600E expresado por baculovirus, marcado con His6 de longitud completa (aminoácidos 2-766) se utilizó en el ensayo BRAMA. Este es un ensayo de alta sensibilidad que mide una hidrólisis de ATP mediada por MEK intrínseca desacoplada de la fosforilación de ERK en dirección 3' mediante el acoplamiento de la formación de ADP a la oxidación de NADH a través de las enzimas piruvato quinasa y lactato deshidrogenasa. Cuando la producción de ADP se inicia mediante adición de cantidades catalíticas de una enzima Raf activada y MEK no fosforilado, se observa producción concomitante robusta de ADP con la fosforilación mediada por Raf de MEK. El método se describe en: C. Rominger, M. Schaber, E. May. Assay for B-Raf Activity Based on Intrinsic MEK ATPase Activity. Statutory Invention Registration 11/084,993 (March, 2005) sino que incluye los siguientes cambios: 1) El ensayo se realizó con una concentración de MEK final de 150 nM y 2) el ensayo se leyó como punto final individual en lugar de una lectura cinética.

La aceleración de la actividad de MEK ATPasa se determinó a partir de los datos y se grafica como una función de la concentración de inhibidor para dar curvas de respuesta de concentración, a partir de las cuales se generaron los valores de pIC50 siguiendo el protocolo de ajuste de pIC50 estándar.

5 El compuesto ejemplificado del Ejemplo 1 se realizó en el ensayo mencionado (A). Los resultados se reportan en la siguiente Tabla 1a en la que los más altos pIC50 para una o más series de cada compuesto ensayado se clasifican como se indica. En la siguiente tabla:

“+” indica que no hay medición de pIC50 mayor de 6 contra B-Raf

“++” indica por lo menos una medición pIC50 mayor de 6 contra B-Raf, pero no mayor que la medición de pIC50 de 7; y

10 “+++” indica por lo menos una medición pIC50 mayor de 7 en contra de B-Raf.

Tabla 1 Actividad de B-Raf

Ejemplo	Actividad
1	+++

15 En un momento después de las series de ensayo mostradas en la Tabla 1a, anterior, los compuestos ejemplificados del Ejemplo 1 se repitieron en el ensayo mencionado (A). Los resultados se reportan en la siguiente Tabla 1b en la que se clasifica el pIC50 promedio de una o más series de cada compuesto ensayado como se indica. En la siguiente tabla:

Los valores pIC50 para los compuestos de los ejemplos se categorizaron por la inhibición relativa de B-Raf. Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

B-Raf pIC ₅₀	Ejemplo No.
8.5 y más	1a, 1d

20 B. Ensayos celulares. – Ensayo de inhibición de Crecimiento Celular

25 Las células tumorales de colon humano (Colo205) se cultivaron en RPMI (Mediatech 50-020-PB) que contenía FBS al 10% y penicilina-estreptomocina al 1%. Las células de cáncer de melanoma humano (SK-MEL-28) se cultivaron en EMEM con aminoácidos no esenciales (Mediatech 50 a 011-pb) que contenían FBS al 10%, piruvato de sodio al 1% (JT Baker 3354-04), y penicilina-estreptomocina al 1%. Todas las estirpes celulares se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%, 95% de aire de incubadora. Las células se recogieron utilizando tripsina/EDTA (Invitrogen 25200), se contaron utilizando un hemocitómetro, y se colocaron en placas. Para los ensayos de 96 pozos (utilizando placas NUNC de área completa blancas cat #136102), las células se colocaron en placas en 105 µl a las siguientes densidades (células/pozo): Colo205, 500; SKMEL- 28, 500. Para los ensayos de 384 pozos (placas NUNC de área completa blancas, cat # 781080), las células se colocaron en placas en 48 µL a las siguientes densidades (células/pozo): Colo205, 500; SK-MEL-28, 500.

35 Al día siguiente, los compuestos se diluyeron como sigue: Para ensayos de 96 pozos, 13.5 µL de compuesto en DMSO se diluyeron con nueve (9) de 1:3 diluciones seriales de 4.5 µL en 9 µL de DMSO. El medio (270 µL /pozo de RPMI con FBS al 10% y penicilina-estreptomocina al 1%) se agregó a las placas. Se agregaron alícuotas (7 µL) a las células en el ensayo final dando una concentración final de DMSO del 0.2%. Para los ensayos de 384 pozos, 15 µL del compuesto en DMSO se diluyeron con nueve (9) de 1:3 diluciones seriales de 5 µL en 10 µL de DMSO, seguido de una dilución adicional de 5 µL del compuesto con 95 µL de medio, de los cuales 2 µL se agregaron a las células en el ensayo final dando una concentración final de DMSO del 0.2%. Las células se incubaron a 37°C, 5% de CO₂ durante 3 días.

40 Se midió el ATP total (como una estimación subrogada del número de células) utilizando el reactivo CellTiter-Glo® (Promega G7571). Brevemente, las placas se retiraron de la incubadora y se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se agregó reactivo CellTiter-Glo® (25 µL o 55 µL para ensayos de 384 pozos o 96 pozos, respectivamente) a cada pozo y las placas se agitaron en un agitador de placas orbital durante 2 minutos.

5 Las placas se incubaron sin agitación durante otros 30 minutos y se leyeron en un lector de LJL Analyst GT en modo de luminómetro con un tiempo de integración de 0.5 segundos por pozo. El porcentaje de inhibición del crecimiento celular se calculó en relación con pozos de control tratados con vehículo DMSO. La concentración de compuesto requerida para dar 50% de inhibición del crecimiento de células de control tratado con vehículo (IC₅₀) se interpoló utilizando un ajuste de 4 parámetros para determinación del IC₅₀ utilizando la siguiente ecuación: $Y = A + ((BA)/(1 + ((C/X) ^ D)))$, donde X = IC₅₀.

Los compuestos del Ejemplo 1 se aplicaron en el ensayo mencionado y los resultados se reportan en la siguiente Tabla 2a. En la siguiente tabla:

“+” indica que el compuesto mostró actividad de > 1 µM en células tumorales Colo205;

10 “++” Indica que el compuesto mostró una actividad entre 100 nM y 1 µM en células tumorales Colo205; y

“+++” indica que el compuesto mostró una actividad de menos de 100 nM en células tumorales Colo205.

Tabla 2a Actividad en Células Tumorales Colo205

Ejemplo	Actividad
1	+++

15 En un momento después de las series de ensayo mostradas en la Tabla 2a, anterior, los compuestos ejemplificados de Ejemplo 1 se repitieron en el ensayo mencionado (B). Los resultados se presentan en la siguiente Tabla 2b en la que se clasifica la inhibición promedio de una o más series de cada compuesto ensayado como se indica. En la siguiente tabla:

Los valores de IC₅₀ (nM) para compuestos de los Ejemplos seleccionados se categorizaron por la inhibición relativa de la proliferación celular. Los resultados se resumen en las siguientes tablas.

IC ₅₀ para Colo205	Ejemplo No.
<100 Nm	1a, 1d

20 Los compuestos del Ejemplo 1 se aplicaron en el ensayo mencionado y los resultados se reportan en la siguiente Tabla 3a. En la siguiente tabla:

“+” indica que el compuesto mostró actividad de >1 µM en células tumorales SK-MEL-28;

“++” indica que el compuesto mostró una actividad de entre 100 nM y 1 µM en células tumorales SK-MEL-28; y

25 “+++” indica que el compuesto mostró una actividad de menos de 100 nM en células tumorales SK-MEL-28.

Tabla 3a – Actividad en Células de Tumor SK-MEL 28

Ejemplo	Actividad
1	+++

30 En un momento después de las series de ensayo mostradas en la Tabla 3a, anterior, los compuestos ejemplificados de Ejemplo 1 se repitieron una o más veces en el ensayo mencionado (B). Los resultados se reportan en la siguiente Tabla 3b en la que se clasifica la inhibición promedio de una o más series de cada compuesto ensayado como se indica. En la siguiente tabla:

Los valores de IC₅₀ (nM) para los compuestos de los ejemplos seleccionados se categorizaron por la inhibición relativa de la proliferación celular. Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

IC50 para SK-MEL-28	Ejemplo No.
<100 nM	1a, 1d

C. Estirpes celulares de cáncer mutante.

5 Veintidós (22) estirpes celulares de cáncer que codifican mutación B-Raf V600E, cultivadas generalmente de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el proveedor de cultivo celular American Type Culture Collection, Manassas, VA, se ensayaron para determinar la sensibilidad a la del compuesto del Ejemplo 1a en un ensayo de proliferación de 3 días. Los datos demostraron que 16 de cada 22 estirpes celulares de cáncer que codifican B-Raf V600E eran sensibles con $gIC_{50} < 100$ nM, mientras que 2 de cada 22 demostraron una respuesta intermedia ($gIC_{50} \geq 100$ nM y < 1000 nM) y 4 de cada 22 no fueron sensibles ($gIC_{50} > 1000$ nM) en el compuesto. La actividad del compuesto del Ejemplo 1a contra estirpes celulares de cáncer mutante B-Raf V600E se muestra en la Tabla 4.

10

Tabla 4

ESTIRPE CELULAR	Origen de Tejido	<i>BRAF</i>	lgC_{50} promedio (nM)
MALME-3M	Piel	V600E	(+++)
UACC-62	Piel	V600E	(+++)
C32TG	Piel	V600E	(+++)
SK-MEL-1	Piel	V600E	(+++)
UCLA-SO-M14	Piel	V600E	(+++)
SK-MEL-28	Piel	V600E	(+++)
DU4475	Mama	V600E	(+++)
WM115	Piel	V600D, V600E	(+++)
UACC-257	Piel	V600E	(+++)
COLO 205	Colon	V600E	(+++)
SK-MEL-3	Piel	V600E	(+++)
A375P F11s	Piel	V600E	(+++)
SH-4	Piel	V600E	(+++)
A101D	Piel	V600E	(+++)
ES-2	Ovario	V600E	(+++)
HT-29	Colon	T119S, V600E	(+++)
SW1417	Colon	V600E	(++)
SW872	Tejido conjuntivo	V600E	(++)
RKO	Colon	V600E	(-)
A673	Músculo	V600E	(-)

ESTIRPE CELULAR	Origen de Tejido	BRAF	IgC ₅₀ promedio (nM)
GCT	Piel	V600E	(-)
NCI-H292	Pulmón	T119S, V600E	(-)
(+++) gIC50<100nM (++) gIC50 >100nM y <1000nM (-) gIC50 >1000nM			

D. Experimentos in vivo

1. Inhibición tumoral dependiente de dosis utilizando el compuesto del ejemplo 1a

5 Se cultivaron F11S A375P en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino al 10%, Penicilina-estrepomicina al 1% y piruvato de sodio al 1%. Las células tumorales (2×10^6 F11S A375P) se implantaron subcutáneamente en el flanco derecho de ratones atímicos el día 1. Para facilitar su crecimiento, las células A375P F11S se suspendieron en Matrigel diluido 1:1 en solución salina regulada con fosfato antes de implantación. Cuando los tumores habían alcanzado aproximadamente 200 mm³ en volumen (día 19 a 22), los ratones portadores de tumores se asignaron al azar en grupos de estudio (n=7 u 8). Los animales se dosificaron por vía oral una o dos veces al día durante un período de 14 días. El compuesto del Ejemplo 1a se dosificó en un HPMC 0.5%/Tween 80 al 0.2% pH 7-8 del vehículo. El crecimiento del tumor se midió dos veces a la semana utilizando calibradores durante el estudio. Los volúmenes tumorales se calcularon como el producto de (longitud x anchura x anchura)/2 y los valores de mediana se utilizaron para comparar los grupos. Las regresiones completas (CR) se definieron como tres mediciones consecutivas de tumor ≤ 13.5 mm³. Las regresiones parciales se definieron como tres mediciones consecutivas de $\leq 50\%$ del volumen inicial del tumor. El retardo en el crecimiento del tumor se define como la diferencia de tiempo tomado para que los grupos tratados y de control alcancen 1000 mm³ (T-C1000).

En la siguiente tabla:

“-” no indica respuesta

“+” indica retardo en el crecimiento (duplicación 1-2x)

20 “++” indica retardo de crecimiento (duplicación >2x)

“+++” indica enfermedad estable

“++++” indica regresión parcial

“+++++” indica regresión completa

Tabla 5- Evaluación in vivo

Estirpe celular	Dosificación	Respuesta
A375P F11s	300 mg/kg bid	++++(+)
A375P F11s	300 mg/kg qd	++++(+)
A375P F11s	100 mg/kg bid	++++(+)
A375P F11s	100 mg/kg qd	++++(+)
A375P F11s	10 mg/kg qd	++(+)

Estirpe celular	Dosificación	Respuesta
A375P F11s	1 mg/kg qd	+
A375P F11s	0.1 mg/kg qd	-

2. Efecto farmacodinámico de diversos compuestos

- La actividad de los compuestos seleccionados de fórmula (I) se ensayó in vivo contra modelo de ratón con xenoinjerto A375PF11s (estirpe celular de melanoma que codifica una mutación B-Raf V600E). La estirpe celular A375P F11S, que codifica una mutación para BRAF^{V600E}, se subclonó de la estirpe celular de melanoma humano A375P (obtenida de ATCC, Cat # CRL-1619) por dilución limitante y seleccionada sobre la base de alta sensibilidad (90%) al inhibidor de BRAF, SB-590885 (disponible comercialmente), en ensayos de proliferación de 3 días. El clon seleccionado (A375P F11S) se aisló y se volvió a confirmar la mutación en B-Raf (T1799A) que codifica el cambio de aminoácido V600E.
- Se utilizaron ratones CD-1 nu/nu hembras de 8-10 semanas de edad en estos estudios; todos los ratones se obtuvieron de Charles River Laboratories (Wilmington, DE). Los animales se alojaron en condiciones libres de patógenos y se manipularon con una técnica aséptica. Se recogieron F11S A375P de matraces de cultivo por exposición a tripsina/EDTA al 0.25% durante 5 min a 37°C. Se recogieron las células desprendidas, se centrifugaron (1500 rpm, 5 min, 4°C) y se enjuagaron para eliminar la solución de tripsina. Las células se resuspendieron en PBS sin magnesio o calcio y se contaron. Las células se centrifugaron como anteriormente para eliminar PBS y una suspensión de células se ha creado ya sea en Matrigel al 50%: PBS al 50% (v: v) o PBS al 100% de modo que una inyección subcutánea de 100 µL suministraría el número necesario de células por ratón. La estirpe celular de melanoma A375P F11S fue inyectada con Matrigel a 4 millones de células por ratón. Se establecieron tumores (~150-300 mm³) para todas las estirpes celulares dentro de 2-4 semanas después de la inyección.
- El compuesto del Ejemplo 1 y otros nueve compuestos de referencia dentro de la fórmula (I) se prepararon en las formulaciones de ya sea HPMC al 0.5%/Tween 80 al 0.2%, pH 7-8 o Encapsina al 20%/ DMSO al 1%. Las preparaciones se administran por vía oral a los ratones como una dosis oral única de 100 mg/kg.
- 2h después de la administración oral de compuestos, los ratones se sacrificaron utilizando dióxido de carbono. Los tumores se escindieron cuidadosamente, se homogenizaron utilizando Medimachine (BD Bioscience) con 1 ml de regulador de lisis (Tris-HCl 25 mM (pH 7.5), EDTA 2 mM (pH 8.0), EGTA 2 mM (pH 8.0), Triton X- 100 al 1%, SDS al 0.1%, Na-B-PO₄ 50 mM, NaVO₄ 2 mM, Na- Pyr-PO₄ 4 mM, cóctel de inhibidor de fosfatasa 2x. El homogeneizado crudo se transfirió a un tubo de polipropileno de 12 ml que contiene 1.5 ml de regulador de lisis y se mantiene en hielo. Después de la homogeneización de todas las muestras, se transfirió 1 ml de homogeneizado a un tubo Eppendorf y se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 min a 4°C. Quinientos microlitros de lisado clarificado se transfirieron a un nuevo tubo, se congelaron flash y se procesaron para cuantificación de pERK y TERK utilizando transferencia de Western o ensayos ELISA (MSD). Antes se determinó la relación de pERK/TERK y se asegura el rango lineal, una curva estándar de BSA se realizó mediante la realización de dilución de 1/3 de veces en serie para alcanzar concentraciones de 20, 13.3, 8.9, 5.9, 3.9, 2.6, 1.7, 1.2, 0.8, 0.5, 0 µg/µl. Se agregó colorante BioRad a diluciones de BSA y lisados de ensayo diluidos. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 15 min y se leyeron en el lector de placas SpectraMax a 595 nM. La comparación con la curva estándar proporciona una medida relativa de la concentración de proteína. Para la determinación de la relación de pERK/TERK por análisis de transferencia Western 50 µg microgramo de lisados tumorales se sometieron a electroforesis en Invitrogen bis-Tris HCl SDS-PAGE al 4-12%. Los geles se transfirieron a membranas de nitrocelulosa utilizando el aparato de transferencia de iBlot, que luego se bloquearon y se incubaron con diferentes anticuerpos primarios durante la noche a 4°C. Las transferencias Western sondadas doblemente contra Perk y Terk se escanearon utilizando el lector LI-COR Odyssey @. Una relación de la densidad de inmunofluorescencia obtenida para pERK/TERK se calcula y se expresa como una relación (en porcentaje) para controlar las muestras sin tratar. Para determinación de la relación de Perk/TERK por ELISA, se utilizó la placa MesoScale Discovery (MSD) (cat # K15107) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, las placas MSD bloque se bloquearon con 150 µl/pozo de regulador de bloqueo durante 1 hr antes de ser lavada 4 veces con 200 µl de regulador de lavado. Se agregaron treinta microlitros (30 µl) de las muestras diluidas en serie a los pozos y las placas se incubaron durante la noche a 4°C bajo agitación lenta (-500 rpm). Las placas se lavaron 4 veces en 200 µl de regulador de lavado Tris 1X y se agregaron 25 µl de solución de anticuerpo de detección a todos los pozos y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hr (-500 rpm). Las placas se lavaron 4 veces en 200 µl de regulador de lavado y se agregó 150 µl de regulador de lectura a todos los pozos. Las placas se leyeron en MSD.SI6000. En este las muestras tratadas de vehículo de ensayo y compuesto se probaron a 4 diluciones diferentes para permitir la cobertura de rango lineal del ensayo. A partir de la señal pERK y TERK, se sustrajo los antecedentes (señal de BSA) y la relación de pERK/TERK se determinó y normalizó a las muestras no tratadas de vehículos, arbitrariamente fijadas en 100%.

La inhibición de pERK por los inhibidores de B-Raf es un buen marcador farmacodinámico (marcador PD) para la inhibición de BRAF. El compuesto del Ejemplo 1 y los otros nueve compuestos exhiben inhibición de pERK (pERK/TERK) de igual o mayor que 30%.

3. Estudio de eficacia in vivo en el ratón.

- 5 De los 10 compuestos ensayados para inhibición de pERK, en C.2 anterior, ocho de los compuestos (el compuesto descrito en el Ejemplo 1 y siete de los otros compuestos) se ensayaron en un estudio de eficacia similar al estudio de D.1 anteriormente. Los resultados demostraron que seis de los ocho compuestos ensayados provocaron la regresión del tumor (volumen del tumor promedio más pequeño después de tratamiento de 14 días que el volumen inicial del tumor) o enfermedad estable (volumen de tumor promedio similar después de tratamiento de 14 días al volumen del tumor promedio inicial) en comparación con los animales tratados con vehículo.
- 10

Ejemplo de Formulación Farmacéutica --Preparaciones de cápsulas que contienen un compuesto de la invención (base libre):

• Contenido en cada cápsula:

= 60 mg de ingrediente farmacéutico activo (API) + 60 mg de Avicel + 13 mg SSG.

- 15 • 133 mg de polvo total en una cápsula de gelatina dura de tamaño 0. El peso de Avicel/SSG se puede aproximar razonablemente.

Procedimiento:

1. Separar las mitades de la cápsula de gelatina dura y marcar/identificar cada una según sea apropiado/necesario.
2. Colocar en la mitad inferior el relleno de la cápsula de con el embudo de llenado en la parte superior.
- 20 3. Pesar los componentes (Avicel, glicolato de almidón sodio (SSG), API) en un único papel de peso (tarado sobre una balanza analítica entre cada pesaje).
4. Registrar los pesos de cada componente.
5. Mezclar con cuidado y completamente los polvos secos en el papel de peso con una pequeña espátula.
6. Transferir con cuidado los polvos mezclados en la cápsula a través del embudo.
- 25 7. Colocar la mitad superior sobre la cápsula y cerca hasta que quede firme, agitar la cápsula para mezclar /distribuir los contenidos.
8. Si el polvo comienza cerca de la parte superior de la cápsula, golpee suavemente la cápsula y el polvo se debe conformar.
- 30 9. Colocar la cápsula en un pequeño frasco debidamente etiquetado (pero lo suficientemente grande como para retirarlo fácilmente).

Ejemplo de Formulación Farmacéutica -- Preparaciones de comprimidos que contienen un compuesto de la invención (base libre):

Componente	Cantidad (mg/comprimido)	% w/w
núcleo del comprimido		
API	405.0	71.6
Monohidrato de Lactosa	59.0	10.4
Polisorbato 80	1.0	0.2
Povidona	40.0	7.1

Componente	Cantidad (mg/comprimido)	% w/w
Dióxido de silicio coloidal	5.5	1.0
Crospovidona	51.0	9.0
Estearato de magnesio	4.5	0.8
Agua purificada	cs	
Película de recubrimiento		
Opadry® Orange, YS-1-13065-A	17.0	3.0
Agua purificada	cs	

Procedimiento:

1. Tamizar lactosa, dióxido de silicio, crospovidona y povidona media.
2. Agregar API.
- 5 3. Granular en Granulador de Alto Corte con solución de granulación que contiene polisorbato 80 disuelto y otro medio de povidona en agua purificada.
4. Moler utilizando tamiz Comil 197, 0.375".
5. Secar utilizando Secador de Lecho Fluido
6. Moler utilizando tamiz Comil 197, 0.075"
- 10 7. Agregar Crospofidona, estearato de magnesio.
8. Mezclar 5 minutos
9. Comprimir tableta
10. Formar comprimidos de recubrimiento con película acuosa

Cristalografía de rayos X del Ejemplo N° 1:

- 15 El patrón de difracción de polvo de rayos X de la Forma 1 del Ejemplo N° 1 se puede determinar utilizando técnicas y equipos convencionales conocidos por aquellos expertos en la técnica de la química analítica y la caracterización física. Los patrones de difracción de la Figura 1 se obtuvieron con un sistema difractómetro PANalítico que utiliza K X-radiación de cobre y equipado con ranuras automatizadas divergentes, filtro de níquel, y un detector de múltiples tiras de tiempo real. La muestra en polvo utilizada para generar los datos de difracción de polvo de rayos X se montó
- 20 en una placa de fondo de cero silicio. En la figura 1, 2 ángulos theta en grados (eje x) se grafican contra la intensidad pico (eje y). El patrón de XRD para cada forma de Ejemplo No. 1 es única para la forma particular; que exhibe un conjunto único de picos de difracción que se pueden expresar en ángulos 2 theta, espacios d (A) y/o intensidades relativas a los picos.

- 25 Desde un cierto margen de error es posible en la asignación de 2 ángulos theta y espacios d, el método preferido para comparar los patrones de difracción de rayos X con el fin de identificar una forma particular de una muestra es superponer el patrón de XRD de la muestra desconocida sobre el patrón de difracción de rayos X de una forma conocida. Por ejemplo, un experto en la técnica puede superponer un patrón de difracción de rayos X de una muestra desconocida del Ejemplo No. 1, obtenido utilizando los métodos descritos aquí, sobre la Figura 1 y,
- 30 utilizando la experiencia y conocimiento en la técnica, determinar fácilmente si el patrón de XRD de la muestra desconocida es sustancialmente el mismo que el patrón de XRD de la forma 1 del Ejemplo No. 1. Si el patrón de

difracción de rayos X es sustancialmente el mismo que la figura 1, la forma previamente desconocida se puede identificar fácil y precisamente como la forma 1 del Ejemplo No. 1.

5 A pesar de que los ángulos 2 theta o los espacios d son el método principal para identificar una forma cristalina particular, puede ser deseable comparar también las intensidades de pico relativas. Como se señaló anteriormente, las intensidades de pico relativas pueden variar dependiendo del difractor específico empleado y de la técnica de preparación de muestras del analista. Las intensidades de pico se reportan como intensidades relativas a la intensidad de pico del pico más fuerte. Las unidades de intensidad en el XRD son conteos/s. Los conteos absolutos = conteos/tiempo x tiempo de conteo = conteos /seg x 10 seg.

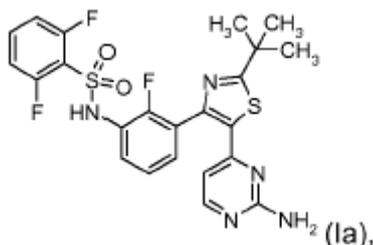
Calorimetría de barrido diferencial de la Forma 1 del Ejemplo No. 1.

10 La calorimetría diferencial de barrido se llevó a cabo en el sistema de TA Instruments DSC Q100 DSC. La velocidad de calentamiento de 10°C por minuto. Tamaño de la muestra 0.4-1.5 mg. El termograma se proporciona en la Figura 2.

15 Como un aspecto adicional, la presente invención proporciona una forma de estado sólido particular, identificada como "Forma 1" de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6-difluorobencenosulfonamida.

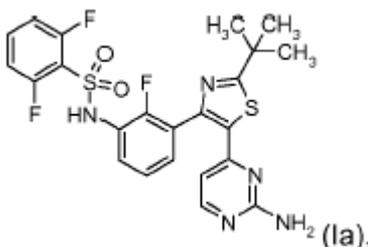
REIVINDICACIONES

1. N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida, que es un compuesto de la fórmula (Ia)



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una sal farmacéuticamente aceptable de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}- 2,6-difluorobencenosulfonamida, que es un compuesto de la fórmula (Ia)



10 3. Mesilato de N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida.

4. N-{3-[5-(2-amino-4-pirimidinil)-2-(1,1-dimetiletil)-1,3-tiazol-4-il]-2-fluorofenil}-2,6- difluorobencenosulfonamida.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y que comprende adicional y opcionalmente uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 en forma de dosificación unitaria.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6 en donde la forma de dosificación unitaria contiene 1 mg a 700 mg de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

20 8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 en donde la forma de dosificación unitaria contiene 5 mg a 100 mg de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. Una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y por lo menos un agente antineoplásico.

10. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 9 en donde un agente antineoplásico es un inhibidor de serina/treonina quinasas.

25 11. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 10 en donde el inhibidor de serina/treonina quinasas es un inhibidor de mitógeno o quinasas reguladas extracelulares (MEKs).

12. Un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, para uso en terapia.

13. Un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, o una combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, para uso en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un humano.
- 5 14. El uso de un compuesto de la fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o de una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, o de una combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un neoplasma susceptible en un humano.
- 10 15. Un compuesto, composición farmacéutica, o combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 13 o el uso de un compuesto, una composición farmacéutica, o una combinación de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho neoplasma susceptible se selecciona de cáncer de mama, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de célula no microcítica, cáncer de ovario y cáncer de tiroides.
- 15 16. Un compuesto, composición farmacéutica, o combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 13 o el uso de un compuesto, una composición farmacéutica, o una combinación de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho neoplasma susceptible es un melanoma.
17. Un compuesto, composición farmacéutica, o combinación para uso o el uso de un compuesto, una composición farmacéutica, o una combinación de acuerdo con la reivindicación 16, en donde dicho melanoma es un melanoma metastásico.
- 20 18. Un compuesto, composición farmacéutica, o combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 13 o el uso de un compuesto, una composición farmacéutica, o una combinación de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el neoplasma susceptible es un neoplasma que exhibe una mutación en BRaf.
19. Un compuesto, composición farmacéutica, o combinación para uso o el uso de un compuesto, una composición farmacéutica, o una combinación de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la mutación resulta en el BRaf que tiene una sustitución de aminoácido V600E.

Figura 1

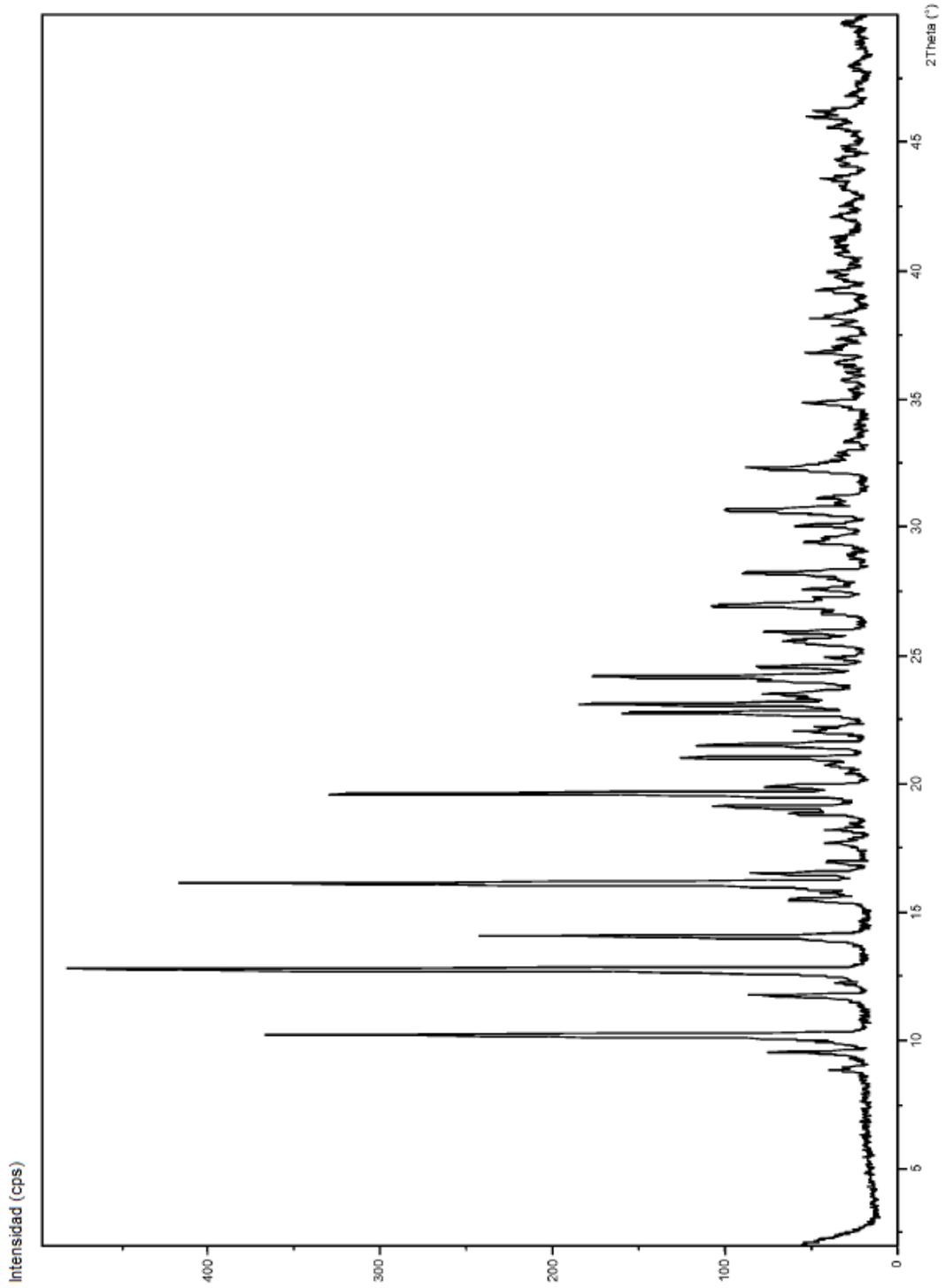


Figura 2

