

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 363**

51 Int. Cl.:

C07D 401/10 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 253/07 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.05.2009** **PCT/US2009/044622**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.11.2009** **WO09143211**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2009** **E 09751439 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017** **EP 2300455**

54 Título: **Sales de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-il-metil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida y procesos relacionados con la preparación de las mismas**

30 Prioridad:

21.05.2008 US 54995 P

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

22.11.2017

73 Titular/es:

**INCYTE HOLDINGS CORPORATION (100.0%)
1801 Augustine Cut-Off
Wilmington, DE 19803, US**

72 Inventor/es:

**WENG, LINGKAI;
QIAO, LEI;
ZHOU, JIACHENG;
LIU, PINGLI y
PAN, YONGCHUN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 643 363 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

Sales de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-il-metil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida y procesos relacionados con la preparación de las mismas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a sales de ácido diclorhídrico y ácido dibencenosulfónico del inhibidor cinasa 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-il-metil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, útiles en el tratamiento del cáncer y de otras enfermedades relacionadas con la regulación incorrecta de las rutas de la cinasa. La presente invención también se refiere a procesos y a productos intermedios para preparar 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-il-metil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, y sales de la misma.

Antecedentes de la invención

Las proteínas cinasas (PK) son un grupo de enzimas que regulan diversos procesos biológicos importantes, incluyendo el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celular, la formación órganos y la morfogénesis, la neovascularización, la reparación y regeneración tisular, entre otros. Las proteínas cinasas ejercen sus funciones fisiológicas mediante la catalización de la fosforilación de proteínas (o sustratos) y modulando así las actividades celulares de los sustratos en diversos contextos biológicos. Además de las funciones en los tejidos/órganos normales, muchas proteínas cinasas también desempeñan papeles más especializados en una serie de enfermedades humanas incluyendo el cáncer. Un subconjunto de proteínas cinasas (también denominadas proteínas cinasas oncogénicas), cuando están desreguladas, pueden causar la formación y el crecimiento tumoral, y contribuir además al mantenimiento y avance del tumor (Blume-Jensen P et al., Nature 2001, 411(6835):355-365).

Hasta el momento, las proteínas cinasas oncogénicas representan uno de los grupos más grandes y atractivos de dianas proteicas para la intervención del cáncer y el desarrollo de fármacos.

c-Met, un protooncogén, es un miembro de una subfamilia distinta de tirosina cinasas receptoras heterodiméricas que incluyen Met, Ron, y Sea (Birchmeier, C. et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2003, 4(12):915-925; Christensen, J. G. et al., Cancer Lett. 2005, 225(1):1-26). El único ligando de alta afinidad para c-Met es el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), también conocido como factor de dispersión (SF). La unión de HGF a c-Met induce la activación del receptor a través de la autofosforilación dando como resultado un aumento de la señalización dependiente del receptor. Tanto c-Met como HGF se expresan ampliamente en una diversidad de órganos, pero su expresión se limita normalmente a las células de origen epitelial y mesenquimal, respectivamente. Las funciones biológicas de c-Met (o ruta de señalización de c-Met) en tejidos normales y neoplasias malignas humanas tal como el cáncer, se han documentado bien (Christensen, JG et al., Cancer Lett. 2005, 225(1):1-26; Corso, S. et al., Trends in Mol. Med. 2005, 11(6):284-292).

HGF y c-Met son requeridos para el desarrollo normal de mamíferos, y las anomalías indicadas tanto en ratones HGF como nulos a c-Met son consistentes con la proximidad de la expresión embrionaria y los defectos de transición epiteliales-mesenquimales durante la morfogénesis de órganos (Christensen, JG et al., Cancer Lett. 2005, 225(1):1-26). De acuerdo con estos hallazgos, se ha demostrado que la transducción de la señalización y los efectos biológicos posteriores de la ruta HGF/c-Met son importantes para la interacción epitelial-mesenquimal y la regulación de la migración celular, la invasión, la proliferación y supervivencia celular, la angiogénesis, la morfogénesis y la organización de estructuras tubulares tridimensionales (por ejemplo, células tubulares renales, formación de glándulas) durante el desarrollo. Las consecuencias específicas de la activación de la ruta de c-Met en una célula/tejido dado dependen mucho del contexto.

La ruta de c-Met desregulada desempeña un papel importante y a veces causante (en el caso de alteraciones genéticas) en la formación, crecimiento, mantenimiento y progresión tumoral (Birchmeier, C. et al., Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2003, 4(12):915-925; Boccaccio, C. et al., Nat. Rev. Cancer 2006, 6(8):637-645; Christensen, J.G. et al., Cancer Lett. 2005, 225(1):1-26). HGF y/o c-Met se sobreexpresan en porciones significativas de la mayoría de los cánceres humanos, y a menudo se asocian con malos resultados clínicos tales como enfermedad más agresiva, progresión de la enfermedad, metástasis tumoral y acortamiento de la supervivencia del paciente. Además, los pacientes con altos niveles de proteínas HGF/c-Met son más resistentes a la quimioterapia y la radioterapia. Además de la expresión anormal de HGF/c-Met, el receptor c-Met también puede activarse en pacientes con cáncer a través de mutaciones genéticas (tanto germinales como somáticas) y amplificación génica. Aunque la amplificación génica y las mutaciones son las alteraciones genéticas más comunes que se han notificado en los pacientes, el receptor también puede ser activado por delecciones, truncamientos, transposición génica, así como procesamiento anormal del receptor y mecanismos reguladores negativos defectuosos.

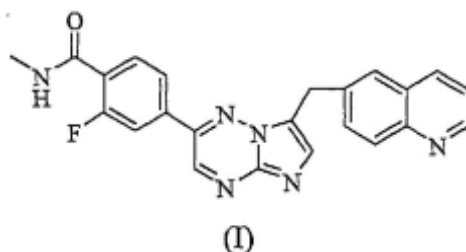
Los diversos cánceres en los que c-Met está implicado incluyen, pero sin limitación: carcinomas (por ejemplo, vejiga, mama, cervical, colangiocarcinoma, colorrectal, esófago, gástrico, cabeza y cuello, riñón, hígado, pulmón, nasofaríngeo, ovárico, páncreas, próstata, tiroides); sarcomas musculoesqueléticos (por ejemplo, osteosarcoma, sarcoma sinovial, rabdomiosarcoma); sarcomas de tejido blanco (por ejemplo, MFH/fibrosarcoma, leiomioma, leiomioma, leiomioma).

sarcoma de Kaposi); neoplasias hematopoyéticas (por ejemplo, mieloma múltiple, linfomas, leucemia de linfocitos T en adultos, leucemia mielógena aguda, leucemia mieloide crónica); y otras neoplasias (por ejemplo, glioblastomas, astrocitomas, melanoma, mesotelioma y tumor de Wilm (www.vai.org/met/; Christensen, J.G. et al., *Cancer Lett.* 2005, 225(1):1-26).

La noción de que la ruta de c-Met activada contribuye a la formación y progresión tumoral y podría ser una buena diana para la intervención eficaz del cáncer se ha consolidado adicionalmente por numerosos estudios preclínicos (Birchmeier, C. et al., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003, 4(12):915-925; Christensen, J.G. et al., *Cancer Lett.* 2005, 225(1):1-26; Corso, S. et al., *Trends en Mol. Med.* 2005, 11(6):284-292). Por ejemplo, los estudios demostraron que el gen de fusión tpr-met, la sobreexpresión de c-met y las mutaciones c-met activadas causaron la transformación oncogénica de diversas líneas celulares modelo y dieron lugar a formación de tumores y metástasis en ratones. Más importante aún, se han demostrado in vitro e in vivo actividades significativas antitumorales (a veces de regresión tumoral) y antimetástasis con agentes que específicamente deterioran y/o bloquean la señalización de HGF/c-Met. Estos agentes incluyen anticuerpos anti-HGF y anti-c-Met, antagonistas peptídicos HGF, receptor c-Met de señuelo, antagonistas peptídicos c-Met, mutaciones c-Met negativas dominantes, oligonucleótidos antisentido específicos de c-Met y ribozimas, e inhibidores de cinasa c-Met de moléculas pequeñas selectivos (Christensen, J.G. et al., *Cancer Lett.* 2005, 225(1):1-26).

Además del papel establecido en el cáncer, la señalización anormal de HGF/c-Met también está implicada en la aterosclerosis, fibrosis pulmonar, fibrosis y regeneración renal, enfermedades hepáticas, trastornos alérgicos, trastornos inflamatorios y autoinmunes, enfermedades cerebrovasculares, enfermedades cardiovasculares, afecciones asociadas con trasplante de órganos (Ma, H. et al., *Atherosclerosis*. 2002, 164(1):79-87; Crestani, B. et al., *Lab. Invest.* 2002, 82(8):1015-1022; Sequera-Flores, A.A. et al., *Rev. Gastroenterol. Mex.* 2004, 69(4):243-250; Morishita, R. et al., *Curr. Gene Ther.* 2004, 4(2):199-206; Morishita, R. et al., *Endocr. J.* 2002, 49(3):273-284; Liu, Y., *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002, 11(1):23-30; Matsumoto, K. et al., *Kidney Int.* 2001, 59(6):2023-2038; Balkovetz, D.F. et al., *Int. Rev. Cytol.* 1999, 186:225-250; Miyazawa, T. et al., *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1998, 18(4):345-348; Koch, A.E. et al., *Arthritis Rheum.* 1996, 39(9):1566-1575; Futamatsu, H. et al., *Circ. Res.* 2005, 96(8):823-830; Eguchi, S. et al., *Clin. Transplant.* 1999, 13(6):536-544).

Los inhibidores de c-Met y otras cinasas se indican en el documento WO2008/064157, incluyendo el compuesto 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida (I) que tiene la estructura indicada a continuación.



Los moduladores de la proteína cinasa de triazolopiridazina se desvelan en el documento WO2008/051805.

Se necesitan continuamente formas nuevas o mejoradas de agentes existentes que inhiben cinasas tales como c-Met para desarrollar fármacos más eficaces para tratar el cáncer y otras enfermedades. Las sales, composiciones y usos descritos en el presente documento están dirigidos hacia estas necesidades y otros fines.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona una sal que es sal de ácido diclorhídrico de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4] triazin-2-il]benzamida, o un hidrato o solvato de la misma.

La presente invención también proporciona una sal que es sal del ácido dibencenosulfónico de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, o un hidrato o solvato de la misma.

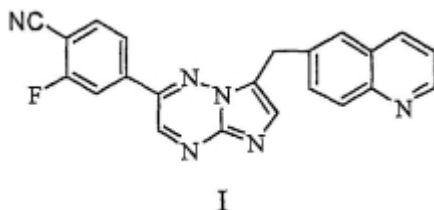
La presente invención también proporciona composiciones que comprenden una sal de la invención, o un hidrato o solvato de la misma, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona las sales de la invención, o un hidrato o solvato de las mismas para su uso en el tratamiento de una enfermedad, en la que la enfermedad está asociada con la regulación incorrecta de la ruta de señalización de HGF/c-MET.

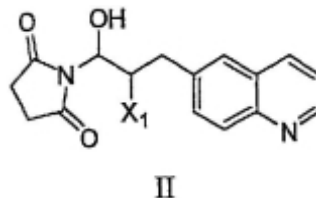
La presente invención también proporciona procesos de preparación de una sal de ácido diclorhídrico hidrato de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, que se caracteriza por un punto de fusión de 220 °C a 224 °C que comprende:

- 5 a) hacer reaccionar una primera mezcla que comprende 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il] benzamida y agua con al menos dos equivalentes de ácido clorhídrico en un disolvente que comprende agua para formar una segunda mezcla; y
b) combinar la segunda mezcla con metil terc-butil éter.

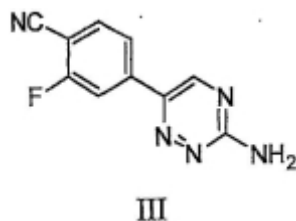
- 10 La presente invención también proporciona procesos para preparar un compuesto de Fórmula I:



- 15 o una sal del mismo;
que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:

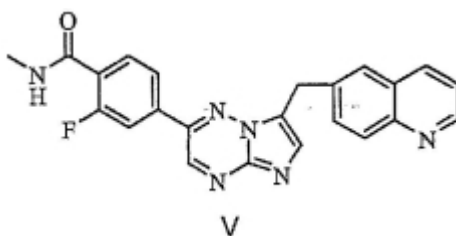


- 20 con un compuesto de Fórmula III:



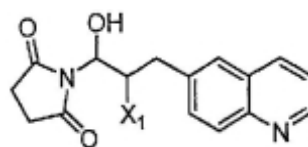
- 25 para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo;
en la que X₁ es cloro, bromo, o yodo.

La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula V y sales del mismo



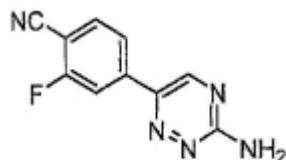
- 30 que comprende

- (a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:



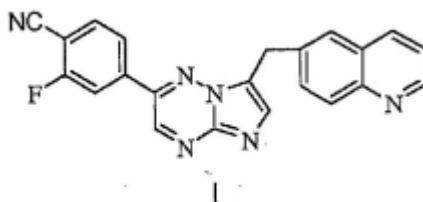
II

en la que X_1 es cloro, bromo, o yodo,
con un compuesto de Fórmula III:



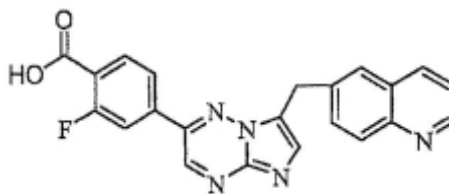
III

para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo; y



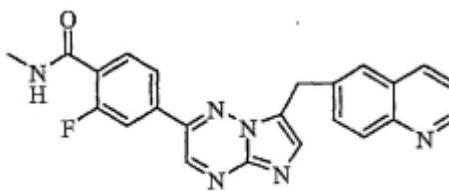
I

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula I, o sal del mismo, con ácido clorhídrico concentrado para formar un compuesto de Fórmula IV o sal del mismo; y



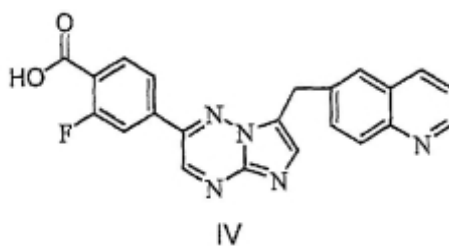
IV

(c) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV, o sal del mismo, con CH_3NH_2 en presencia de al menos un agente de acoplamiento para formar un compuesto de Fórmula V:

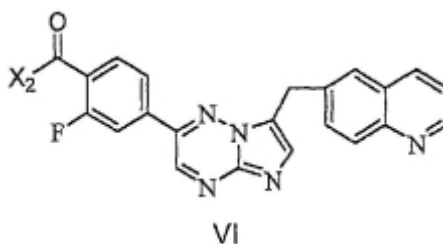


V

o sal del mismo, en la que dicho agente de acoplamiento se selecciona entre 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxibenzotriazol, hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxil)tripirrolidinofosfonio, y sales de los mismos, o
(d)(i) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV o sal del mismo,

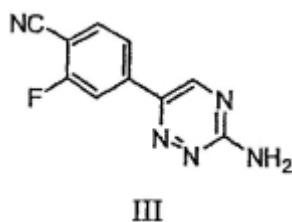


con un agente de halogenación, para formar un compuesto de Fórmula VI o sal del mismo;



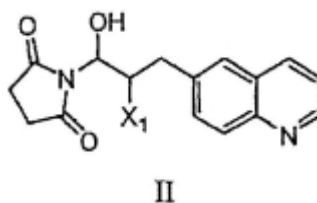
en la que X_2 es halógeno y dicho agente de halogenación es preferiblemente cloruro de tionilo; y
(d)(ii) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula VI, o sal del mismo, con CH_3NH_2 para formar un compuesto de Fórmula V o sal del mismo.

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula III:



o sales de los mismos.

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula II:



en la que X^1 es cloro, yodo o bromo.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) característico de una sal de ácido diclorhídrico de la invención preparada de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1.
La figura 2 muestra una traza de calorimetría de barrido diferencial (DSC) característica de una sal de ácido diclorhídrico de la invención preparada de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1.
La figura 3 muestra un termograma de análisis termogravimétrico (TGA) característico de una sal de ácido diclorhídrico de la invención preparada de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1.
La figura 4 muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) característico de una sal de ácido dibencenosulfónico de la invención preparada de acuerdo con el proceso del Ejemplo 5.
La figura 5 muestra una traza de calorimetría de barrido diferencial (DSC) característica de una sal de ácido dibencenosulfónico de la invención preparada de acuerdo con el proceso del Ejemplo 5.

Descripción detallada

La presente invención proporciona, inter alia, sales de ácido diclorhídrico y ácido dibencenosulfónico del inhibidor de c-Met cinasa 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida (véase la Fórmula I anterior). Las sales de la invención son ventajosas ya que pueden obtenerse en forma cristalina, haciéndolas particularmente adecuadas para su uso en formulaciones farmacéuticas.

Sal de ácido diclorhídrico

La sal de ácido diclorhídrico puede prepararse combinando 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida con un exceso molar de ácido clorhídrico, tal como se describe en el Ejemplo 1 a continuación. La sal de ácido diclorhídrico puede obtenerse en forma de un sólido cristalino como se evidencia por el patrón XRPD mostrado en la figura 1 (véase también el Ejemplo 2 a continuación). La sal de ácido diclorhídrico también puede obtenerse como un hidrato, en base a los resultados TGA mostrados en la figura 3 (véase también el Ejemplo 4 a continuación). El análisis por DSC indica que la sal de ácido diclorhídrico se funde de aproximadamente 220 a aproximadamente 224 °C, o más particularmente a aproximadamente 222 °C (véase la figura 2 y el Ejemplo 3). Se encontró que la solubilidad a 25 °C era aproximadamente 4,5 mg/ml en agua; 0,002 mg/ml en tampón a pH 7,4; 0,002 mg/ml en tampón a pH 8,0; y aproximadamente 24 mg/ml en HCl acuoso 0,1 N. Se encontró que la sal preparada por el método del Ejemplo 1 era deseablemente reproducible con buenas propiedades de solubilidad.

En algunas realizaciones, la sal diclorhidrato tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende un pico característico expresado en grados 20 a 7,8, 26,0, 24,7, 18,2, y 29,3.

Sal de ácido dibencenosulfónico

La sal ácido dibencenosulfónico (sal di-besilato) puede prepararse combinando 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida con un exceso molar de ácido bencenosulfónico, tal como se describe en el Ejemplo 5 a continuación. La sal de ácido dibencenosulfónico puede obtenerse en forma de un sólido cristalino como se evidencia por el patrón XRPD mostrado en la figura 4 (véase también el Ejemplo 5 a continuación). El análisis por DSC indica que la sal de ácido dibencenosulfónico se funde de aproximadamente 268 a aproximadamente 272 °C, o más particularmente a aproximadamente 270 °C (véase la figura 5 y el Ejemplo 7). Se encontró que la solubilidad a 25 °C era aproximadamente 3,9 mg/ml en agua; 0,003 mg/ml en tampón a pH 7,4; 0,003 mg/ml en tampón a pH 8,0; y al menos 29 mg/ml en HCl acuoso 0,1 N.

En algunas realizaciones, la sal dibencenosulfonato tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos característicos expresados en grados 20 a 15,0, 16,3, 18,3, 20,2, 23,8, y 4,9.

Definiciones y realizaciones adicionales

La presente invención incluye hidratos o solvatos de las sales mencionadas anteriormente. Los solvatos se refieren a sales que contienen disolvente dentro o como un componente de la red cristalina. El término "hidrato," como se usa en el presente documento, es un solvato particular donde el disolvente es agua y se refiere a una sustancia que tiene aguas de hidratación. Los hidratos ejemplares incluyen hemihidratos, monohidratos, dihidratos, etc.

En algunas realizaciones, las sales de la invención son cristalinas. Como se usa en el presente documento, una sustancia "cristalina" se refiere a una sustancia que contiene al menos algún material cristalino. La presencia de material cristalino puede ser detectada por medio de XRPD, por ejemplo. Las sales de la invención pueden cristalizar en diferentes formas cristalinas que tienen redes cristalinas diferentes y, en consecuencia, tienen propiedades físicas diferentes. Algunas formas cristalinas pueden tener diferentes contenidos de agua o disolvente. Las diferentes redes cristalinas pueden identificarse mediante métodos de caracterización en estado sólido tales como por difracción de polvo de rayos X (XRPD). Otros métodos de caracterización, tales como calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y la sorción dinámica de vapor (DVS), ayudan además a identificar la forma cristalina, así como ayudan a determinar la estabilidad y el contenido de disolvente/agua.

Las diferentes formas cristalinas de una sustancia particular, tal como una sal de la invención, pueden incluir tanto formas anhidras de esa sustancia como formas solvatadas/hidratadas de esa sustancia, donde cada una de las formas anhidras y formas solvatadas/hidratadas se distinguen entre sí por diferentes patrones XRPD, lo que significa de este modo diferentes redes cristalinas. En algunos casos, una sola forma cristalina (por ejemplo, identificada por un patrón de XRPD único) puede tener contenido variable de agua o disolvente, donde la red permanece sustancialmente sin cambios (al igual que el patrón XRPD) a pesar de la variación de composición con respecto al agua y/o solvente.

Un patrón XRPD de reflejos (picos) se considera típicamente una huella digital de una forma cristalina particular. Se conoce bien que las intensidades relativas de los picos de XRPD pueden variar ampliamente dependiendo, inter alia, de la técnica de preparación de la muestra, de la distribución del tamaño del cristal, de los diversos filtros usados,

del procedimiento de montaje de la muestra, y del instrumento particular empleado. En algunos casos, pueden observarse nuevos picos o desaparecer los picos existentes, dependiendo del tipo de instrumento o de los ajustes.

Como se usa en el presente documento, el término "pico" se refiere a una reflexión que tiene una altura/intensidad relativa de al menos aproximadamente el 4 % de la altura/intensidad máxima de los picos. Por otra parte, la variación del instrumento y otros factores pueden afectar a los valores 2-theta. Por lo tanto, las asignaciones de pico, tales como las presentadas en el presente documento, pueden variar en más o menos aproximadamente 0,2° (2-theta), y el término "sustancialmente" como se utiliza en el contexto de XRPD en el presente documento pretende incluir las variaciones mencionadas anteriormente.

De la misma manera, las lecturas de temperatura en relación con DSC, TGA u otros experimentos térmicos pueden variar aproximadamente ± 3 °C dependiendo del instrumento, ajustes particulares, preparación de muestras, etc. Por consiguiente, una forma sólida o cristalina que se informa en el presente documento que tiene un termograma DSC "sustancialmente" como se muestra en cualquiera de las figuras se entiende que acepta tal variación.

La sal de la invención también puede incluir todos los isótopos de átomos que se producen en la sal. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero números másicos diferentes. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

La sal de la invención, y sus formas sólidas, pueden encontrar junto con otras sustancias o pueden aislarse. En algunas realizaciones, la sal de la invención, o sus formas vendidas, está sustancialmente aislada. Por "sustancialmente aislado" quiere decir que la sal está al menos parcial o sustancialmente separada del entorno en el que se formó o se detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en la sal de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 97 %, o al menos aproximadamente el 99 % en peso de la sal de la invención. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

Usos médicos

El tratamiento de una célula (in vitro o in vivo) que expresa una proteína cinasa con la sal de la invención puede dar como resultado la inhibición de la ruta de señalización del ligando/cinasa y la inhibición de eventos aguas abajo relacionados con la ruta de señalización tales como la proliferación celular y el aumento motilidad celular. Por ejemplo, la sal de la invención puede bloquear y/o alterar los procesos bioquímicos y biológicos resultantes de la activación de la ruta de c-Met, incluyendo, pero sin limitación, la activación de cinasa c-Met (por ejemplo, fosforilación c-Met) y la señalización (reclutamiento de sustratos celulares tales como Gab1, Grb2, She y c-Cbl y la posterior activación de un número de transductores de señal incluyendo PI-3 cinasa, PLC- γ , STAT, ERK1/2 y FAK), la proliferación y supervivencia celular, la motilidad, la migración e invasión, la metástasis y la angiogénesis. Por lo tanto, también se describen en el presente documento métodos de inhibición de una ruta de señalización de ligando/cinasa tal como la ruta de señalización de HGF/c-Met cinasa en una célula poniendo en contacto la célula con una sal de la invención. También se describen en el presente documento métodos para inhibir la actividad proliferativa de una célula o para inhibir la motilidad celular poniendo en contacto la célula con una sal de la invención.

Las sales de la presente invención son para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas con una ruta de señalización de cinasa desregulada, incluyendo la actividad anormal y/o la sobreexpresión de la proteína cinasa.

En algunas realizaciones, la cinasa desregulada es de la familia Met (por ejemplo, c-Met, Ron, o Sea). En algunas realizaciones, la cinasa desregulada se sobreexpresa en el tejido enfermo del paciente. En algunas realizaciones, la cinasa con regulación incorrecta, es anormalmente activa en el tejido enfermo del paciente. La regulación incorrecta de c-Met y de la ruta de señalización de HGF/c-Met pretende incluir la activación de la enzima a través de diversos mecanismos incluyendo, pero sin limitación, la activación autocrina y paracrina dependiente de HGF, la sobreexpresión y amplificación del gen c-met, mutaciones puntuales, delecciones, truncamientos, transposición, así como procesamiento anormal del receptor c-Met y mecanismos reguladores negativos defectuosos.

En algunas realizaciones, la sal de la invención es para su uso en el tratamiento de enfermedades tales como cáncer, aterosclerosis, fibrosis pulmonar, fibrosis y regeneración renal, enfermedad hepática, trastorno alérgico, enfermedad inflamatoria, trastorno autoinmune, enfermedad cerebrovascular, enfermedad cardiovascular, o afección asociada con el trasplante de órganos. En realizaciones adicionales, los compuestos de la invención son para su uso en la inhibición del crecimiento tumoral o metástasis de un tumor en un paciente.

Los cánceres ejemplares que pueden tratarse por los usos en el presente documento incluyen cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer nasofaríngeo, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, sarcoma sinovial,

rabdomiosarcoma, MFH/fibrosarcoma, leiomiosarcoma, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple, linfoma, leucemia de linfocitos T en adultos, leucemia mielógena aguda, leucemia mieloide crónica, glioblastoma, astrocitoma, melanoma, mesotelioma, o tumor de Wilm.

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "célula" pretende referirse a una célula que está in vitro, ex vivo o in vivo. En algunas realizaciones, una célula ex vivo puede ser parte de una muestra tisular extirpada de un organismo, tal como un mamífero. En algunas realizaciones, una célula in vitro puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas realizaciones, una célula in vivo es una célula que vive en un organismo, tal como un mamífero.
- 10 Como se usa en el presente documento, la expresión "poner en contacto" se refiere a poner juntos los restos indicados en un sistema in vitro o un sistema in vivo. Por ejemplo, "poner en contacto" un compuesto de la invención con una proteína cinasa incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, así como, por ejemplo, introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada de la proteína cinasa.
- 15 Como se usa en el presente documento, los términos "individuo" o "paciente", usados de forma intercambiable, se refieren a cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos, o primates, y mucho más preferiblemente seres humanos.
- 20 Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a uno o más de (1) prevención de la enfermedad; por ejemplo, prevención de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno, pero aún no experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad; (2) inhibición de la enfermedad; por ejemplo, inhibición de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno; y (3) la mejora de la enfermedad; por ejemplo, mejora de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, invertir la patología y/o sintomatología), tal como disminuir la gravedad de la enfermedad.
- 25
- 30 Terapia de combinación
- Uno o más agentes farmacéuticos o métodos de tratamiento adicionales tales como, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos, agentes anticancerosos, agentes citotóxicos o terapias contra el cáncer (por ejemplo, radiación, hormonas, etc.), pueden usarse junto con la sal de la presente invención para el tratamiento de las enfermedades, trastornos o afecciones descritas en el presente documento. Los agentes o terapias pueden administrarse junto con la sal de la invención (por ejemplo, combinados en una forma de dosificación única), o los agentes o terapias pueden administrarse simultánea o secuencialmente por rutas de administración separadas.
- 35
- Los agentes anticancerosos adecuados incluyen agentes inhibidores de la cinasa incluyendo trastuzumab (Herceptin), imatinib (Gleevec), gefitinib (Iressa), clorhidrato de erlotinib (Tarceva), cetuximab (Erbix), bevacizumab (Avastin), sorafenib (Nexavar), sunitinib (Sutent), e inhibidores de RTK descritos en, por ejemplo, los documentos WO 2005/004808, WO 2005/004607, WO 2005/005378, WO 2004/076412, WO 2005/121125, WO 2005/039586, WO 2005/028475, WO 2005/040345, WO 2005/039586, WO 2003/097641, WO 2003/087026, WO 2005/040154, WO 2005/030140, WO 2006/014325, WO 2005/070891, WO 2005/073224, WO 2005/113494, y la Pub. de Sol. de Pat. de Estados Unidos N.º 2005/0085473, 2006/0046991, y 2005/0075340.
- 40
- Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen además, por ejemplo, agentes alquilantes (incluyendo, sin limitación, mostazas de nitrógeno, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos) tales como mostaza de uracilo, clometina, ciclofosfamida (CytosanTM), ifosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobromano, trietilenmelamina, trietilenotiofosforamina, busulfán, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.
- 50
- Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen además, por ejemplo, antimetabolitos (incluyendo, sin limitación, antagonistas de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa) tales como metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina, y gemcitabina.
- 55
- Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen además, por ejemplo, ciertos productos naturales y sus derivados (por ejemplo, alcaloides de vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, linfoquinas y epipodofilotoxinas) tales como vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomycin, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, ara-C, paclitaxel (TaxolTM), mitramicina, desoxicomformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, interferones (especialmente IFN- α), etopósido y tenipósido.
- 60
- Otros agentes citotóxicos incluyen navelbeno, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, ciclofosfamida, ifosamida, y droloxafina.
- 65

También son adecuados agentes citotóxicos tales como epidofilotoxina; una enzima antineoplásica; un inhibidor de topoisomerasa; procarbazona; mitoxantrona; complejos de coordinación de platino tales como cis-platino y carboplatino; modificadores de la respuesta biológica; inhibidores del crecimiento; agentes terapéuticos antihormonales; leucovorina; tegafur; y factores de crecimiento hematopoyético.

Otros agentes anticancerosos incluyen agentes terapéuticos de anticuerpos tales como trastuzumab (Herceptin), anticuerpos para moléculas coestimuladoras tales como CTLA-4, 4-1BB y PD-1, o anticuerpos contra citocinas (IL-10, TGF- β , etc.). Los agentes terapéuticos adicionales de anticuerpos incluyen anticuerpos contra tirosina cinasas y/o sus ligandos tales como anticuerpos anti-HGF y/o anticuerpos anti-c-Met. El término "anticuerpo" pretende incluir anticuerpos enteros (por ejemplo, monoclonales, policlonales, quiméricos, humanizados, humanos, etc.), así como fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Otros agentes anticancerosos también incluyen aquellos que bloquean la migración de células inmunitarias tales como antagonistas a receptores de quimiocinas, incluyendo CCR2 y CCR4.

Otros agentes anticancerosos también incluyen aquellos que aumentan el sistema inmune tales como adyuvantes o transferencia adoptiva de linfocitos T.

Otros agentes anticancerosos incluyen vacunas contra el cáncer tales como células dendríticas, péptidos sintéticos, vacunas de ADN y virus recombinantes.

Los métodos para la administración segura y eficaz de la mayoría de los agentes anteriores son conocidos por los expertos en la técnica. Además, su administración se describe en la bibliografía estándar. Por ejemplo, la administración de muchos de los agentes quimioterapéuticos se describe en "Physicians' Desk Reference" (PDR, por ejemplo, edición de 1996, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Productos intermedios y procesos

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un proceso para preparar una forma particular de la sal de diclorhidrato mediante un proceso que comprende:

- a) hacer reaccionar una primera mezcla que comprende 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il] benzamida y agua con al menos dos equivalentes de ácido clorhídrico en un disolvente que comprende agua para formar una segunda mezcla; y
- b) combinar la segunda mezcla con metil terc-butil éter.

En algunas realizaciones, la etapa a) se realiza a una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 °C.

En algunas realizaciones, la etapa a) y b) se realizan a aproximadamente la temperatura ambiente.

Otro proceso descrito en el presente documento para preparar una forma particular de la sal diclorhidrato comprende:

- a) hacer reaccionar una primera mezcla que comprende 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il] benzamida y metanol con al menos dos equivalentes de ácido clorhídrico en un disolvente que comprende isopropanol para formar una segunda mezcla; y
- b) combinar la segunda mezcla con acetona.

La etapa a) y b) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 60 °C.

La etapa a) y b) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 55 °C.

Otro proceso descrito en el presente documento para preparar una forma particular de la sal de ácido dibencenosulfónico comprende:

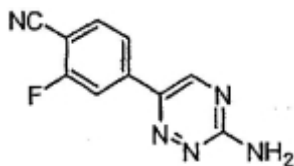
- a) hacer reaccionar una primera mezcla que comprende 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il] benzamida y metanol con al menos dos equivalentes de ácido bencenosulfónico en un disolvente que comprende isopropanol; y
- b) combinar la segunda mezcla con metil terc-butil éter.

La etapa a) y b) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 60 °C.

La etapa a) y b) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 55 °C.

La presente invención proporciona también, inter alia, procesos y productos intermedios útiles en la preparación de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida y sales de la misma, incluyendo las sales de la invención.

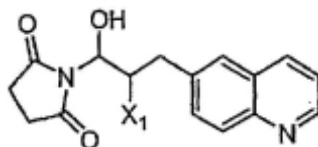
Por ejemplo, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula III:



III

5 o sal del mismo.

La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula II:

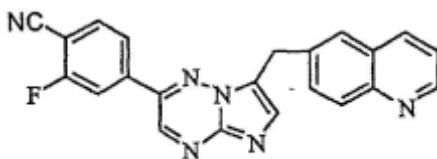


II

10 en la que X¹ es cloro, yodo o bromo.

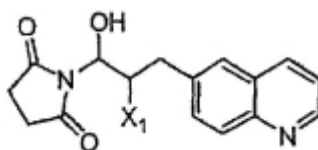
En algunas realizaciones, X₁ es cloro.

15 La presente invención también proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula I:



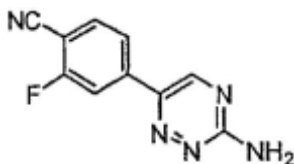
I

20 o una sal del mismo;
que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:



II

25 con un compuesto de Fórmula III:



III

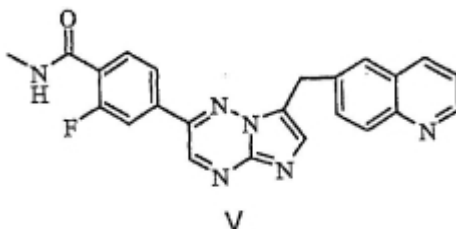
30 para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo;
en la que X₁ es cloro, bromo, o yodo.

En algunas realizaciones, X₁ es cloro.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente tal como etilenglicol. En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 120 °C a aproximadamente 150 °C, o de

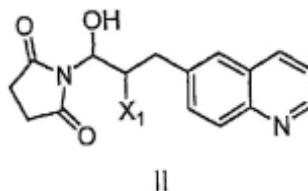
aproximadamente 130 °C a aproximadamente 140 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza durante aproximadamente tres a aproximadamente cuatro horas.

5 La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula V y sales del mismo

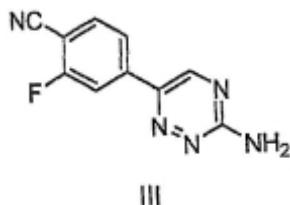


que comprende

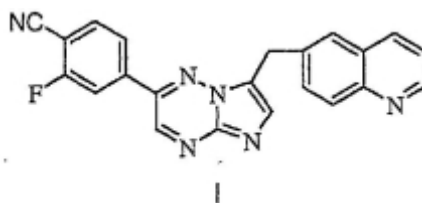
10 (a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:



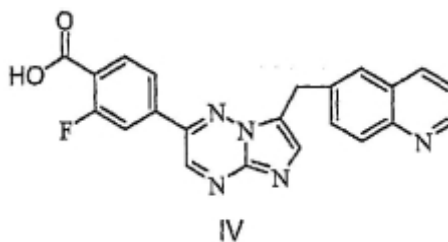
15 en la que X₁ es cloro, bromo, o yodo, con un compuesto de Fórmula III:



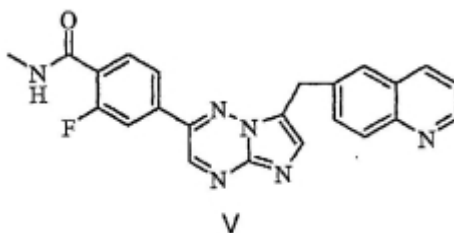
20 para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo; y



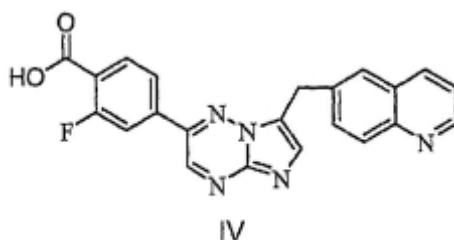
25 (b) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula I, o sal del mismo, con ácido clorhídrico concentrado para formar un compuesto de Fórmula IV o sal del mismo; y



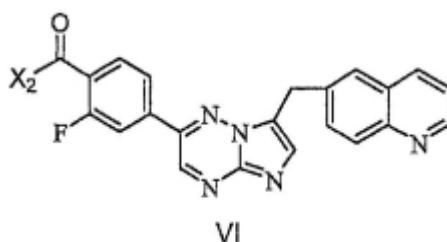
30 (c) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV, o sal del mismo, con CH₃NH₂ en presencia de al menos un agente de acoplamiento para formar un compuesto de Fórmula V:



5 o sal del mismo, en la que dicho agente de acoplamiento se selecciona entre 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxibenzotriazol, hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxil)tripirrolidinofosfonio, y sales de los mismos, o
(d)(i) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV o sal del mismo,



10 con un agente de halogenación, para formar un compuesto de Fórmula VI o sal del mismo;



15 en la que X₂ es halógeno y dicho agente de halogenación es preferiblemente cloruro de tionilo; y
(d)(ii) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula VI, o sal del mismo, con CH₃NH₂ para formar un compuesto de Fórmula V o sal del mismo.

20 En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula I con ácido clorhídrico concentrado se realiza a una temperatura de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 120 °C, de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 110 °C, o aproximadamente 100 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza durante aproximadamente 15 a aproximadamente 24 horas, o aproximadamente 13 horas.

25 En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IV con CH₃NH₂ se realiza a una temperatura de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 25 °C, aproximadamente 30 °C, o aproximadamente la temperatura ambiente. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, acetonitrilo. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en presencia de una base, incluyendo, pero sin limitación, una amina terciaria, tal como trietilamina. En algunas realizaciones, CH₃NH₂ está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 equivalentes, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 equivalentes, o de aproximadamente 3 a aproximadamente 6 equivalentes.

30 En algunas realizaciones, X₂ es cloro. En algunas realizaciones, el agente de halogenación es cloruro de tionilo. En algunas realizaciones, el agente de halogenación es cloruro de oxalilo.

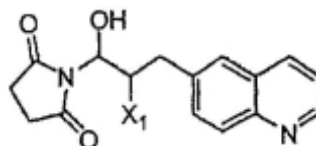
35 En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IV con un agente de halogenación se realiza a una temperatura de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 75 °C, o aproximadamente 72 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, tolueno. En algunas realizaciones, el agente de halogenación está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 equivalentes, de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 equivalentes, o aproximadamente 10 equivalentes.

40

En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula VI con CH_3NH_2 se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 35°C , de aproximadamente 0°C a aproximadamente 10°C , o aproximadamente la temperatura ambiente. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, tetrahidrofurano. En algunas realizaciones, CH_3NH_2 está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 equivalentes, de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 equivalentes, o aproximadamente 10 equivalentes.

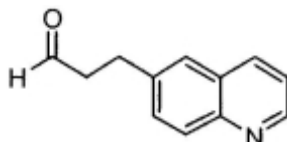
En algunas realizaciones, la etapa b) se realiza en presencia de una base (por ejemplo, una amina terciaria).

En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula II:



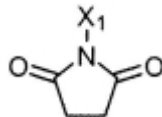
II

mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIa:



IIa

con un compuesto de Fórmula IIb:



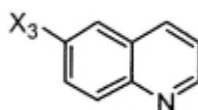
IIb

en la que X_1 es cloro, bromo, o yodo.

En algunas realizaciones, X_1 es cloro.

En algunas realizaciones, la reacción se realiza en presencia de prolina. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en presencia de prolina y ácido benzoico. En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IIa con el compuesto de Fórmula IIb se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 50°C , de aproximadamente 20°C a aproximadamente 40°C , o aproximadamente 20°C . En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, cloruro de metileno. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula IIb está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,5 equivalentes, de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,2 equivalentes, o aproximadamente 1,05 equivalentes. En algunas realizaciones, la prolina está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5 equivalentes, o de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,2 equivalentes. En algunas realizaciones, la prolina está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 equivalentes y el ácido benzoico está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 equivalentes.

En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula IIa mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIc:



IIc

con prop-2-en-1-ol en presencia de un catalizador de paladio y una base;

en la que X_3 es cloro, bromo, o yodo.

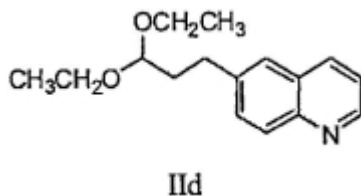
En algunas realizaciones, X_3 es bromo.

- 5 En algunas realizaciones, se utilizan las condiciones de reacción de acoplamiento de Heck, usando catalizadores de paladio (0) o paladio (II) y se realizan en condiciones conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Melpolder y Heck, J. Org. Chem. 1976, 41, 265-272, o Littke y Fu, J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 6989-7000). En algunas realizaciones, el catalizador de paladio es $Pd_2(dba)_3$ (tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0)). En algunas realizaciones, el catalizador de paladio está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 equivalentes, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 equivalentes, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,02 equivalentes, o aproximadamente 0,015 equivalentes. En algunas realizaciones, la reacción comprende además la reacción en presencia de un ligando de fosfina, o sal del mismo. En algunas realizaciones, el ligando de fosfina, o sal del mismo, es tetrafluoroborato de tris(t-butil)fosfonio. En algunas realizaciones, el ligando está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 equivalentes, o aproximadamente 0,03 equivalentes.

- 20 En algunas realizaciones, la base es una base inorgánica. En algunas realizaciones, la base es una base orgánica. En algunas realizaciones, la base es una amina terciaria, incluyendo pero sin limitarse a, N-metil-N-ciclohexilciclohexilamina. En algunas realizaciones, la base es carbonato de metal alcalino. En algunas realizaciones, la base está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 equivalentes, de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,5 equivalentes, o aproximadamente 1,2 equivalentes.

- 25 En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IIc con prop-2-en-1-ol se realiza a una temperatura de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 70 °C, o de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 55 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, dioxano. En algunas realizaciones, prop-2-en-1-ol está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, o aproximadamente 2 equivalentes.

- 30 En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula IIa mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIc:

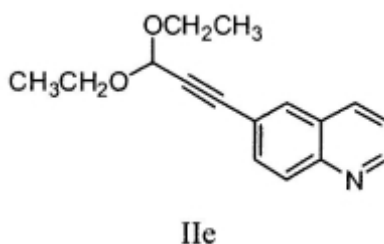


- 35 con un ácido de fórmula HX' ; en la que X' es cloro, bromo, o yodo.

En algunas realizaciones, X' es cloro.

- 40 En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IIc con el ácido se realiza a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 20 °C, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 10 °C, o de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, acetato de etilo.

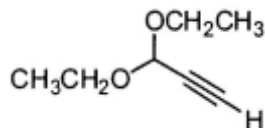
- 45 En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIc mediante un proceso que comprende reducir un compuesto de Fórmula IIe:



- 50 con gas hidrógeno en presencia de un catalizador de hidrogenación.

En algunas realizaciones, el catalizador de hidrogenación es paladio sobre carbono. En algunas realizaciones, el gas hidrógeno es a una presión de aproximadamente 1 atmósfera. En algunas realizaciones, En algunas realizaciones, la reacción del compuesto de Fórmula IIe con gas hidrógeno se realiza a aproximadamente la temperatura ambiente.

- 5 En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIe mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIc con un compuesto de Fórmula IIg (acoplamiento de Sonogashira usando, por ejemplo, el método de Ziesel o Kelly, Suffert y Ziesel, Tetrahedron Lett. 1991, 32, 757; Kelly, Lee, y Mears, J. Org. Chem. 1997, 62, 2774):



IIg

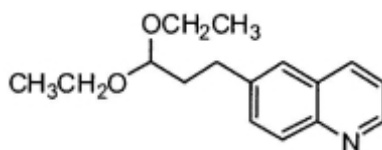
en presencia de un catalizador de acoplamiento y una base.

En algunas realizaciones, el catalizador de acoplamiento es un catalizador de paladio, incluyendo, pero sin limitación, acetato de paladio. En algunas realizaciones, el catalizador es una mezcla de acetato de paladio y CuI. En algunas realizaciones, la base es una base inorgánica. En algunas realizaciones, la base es una base orgánica. En algunas realizaciones, la base es una amina terciaria, incluyendo, pero sin limitación, trietilamina. En algunas realizaciones, la base es carbonato de metal alcalino. En algunas realizaciones, la base está presente en una cantidad de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 equivalentes, de aproximadamente 4 a aproximadamente 9 equivalentes, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8 equivalentes, o aproximadamente 7,2 equivalentes.

En algunas realizaciones, la reacción comprende además la reacción en presencia de un ligando de fosfina, o sal del mismo, incluyendo, pero sin limitación, trifenilfosfina. En algunas realizaciones, el acetato de paladio está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 equivalentes, o aproximadamente 0,03 equivalentes. En algunas realizaciones, el yoduro de cobre (I) está presente en una cantidad de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,2 equivalentes, o aproximadamente 0,01 equivalentes. En algunas realizaciones, el ligando de fosfina, o sal del mismo, está presente en una cantidad de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,2 equivalentes, o aproximadamente 0,012 equivalentes.

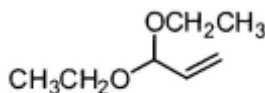
En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 70 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 100 °C, o aproximadamente 90 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, dimetilformamida. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula IIg está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, o aproximadamente 2 equivalentes.

En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIId:



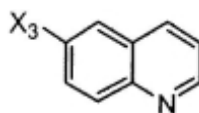
IIId

mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIg:



IIg

con 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN), seguido de la reacción con un compuesto de Fórmula IIc:



IIc

en presencia de un catalizador de acoplamiento para formar el compuesto de Fórmula IId, en la que X_3 es cloro, bromo, o yodo.

En algunas realizaciones, X_3 es cloro.

En algunas realizaciones, el 9-BBN se añade directamente. En algunas realizaciones, el 9-BBN se genera in situ (Soderquist y Negron, J. Org. Chem., 1987, 52, 3441-3442). En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula IIg está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, o de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,5 equivalentes, o aproximadamente 1,75 equivalentes.

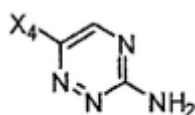
En algunas realizaciones, se utilizan condiciones de reacción de acoplamiento, usando catalizadores de paladio (0) o paladio (II) y se realizan en condiciones conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Miyaura y Suzuki, Chem. Rev. 1995, 95, 2457-2483). En algunas realizaciones, el catalizador de paladio es acetato de paladio (II). En algunas realizaciones, el catalizador de paladio está presente en una cantidad de aproximadamente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 equivalentes, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 equivalentes, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,07 equivalentes, o aproximadamente 0,05 equivalentes.

En algunas realizaciones, la reacción comprende además la reacción en presencia de un ligando de fosfina, o sal del mismo. En algunas realizaciones, el ligando de fosfina es triciclohexilfosfina. En algunas realizaciones, el ligando de fosfina, o sal del mismo, está presente en una cantidad de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 equivalentes, o aproximadamente 0,1 equivalentes.

En algunas realizaciones, la segunda etapa se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, tetrahidrofurano, agua, o mezclas de los mismos.

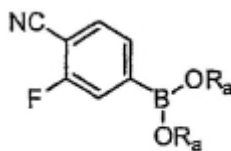
En algunas realizaciones, la segunda etapa se realiza a la temperatura de reflujo.

En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula III mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIIa:



IIIa

con un compuesto de Fórmula IIIb:



IIIb

en presencia de un catalizador de paladio y una base; en la que:

X_4 es cloro, bromo o yodo; y

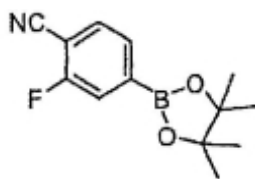
cada R_a es, independientemente, alquilo C_{1-6} ; o

cada R_a , junto con los dos átomos de oxígeno y átomo de boro forman un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros;

en la que el anillo heterocíclico está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3 o 4 grupos alquilo C_{1-4} independientemente seleccionados.

En algunas realizaciones, X_4 es bromo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula IIIb tiene la fórmula IIIb-1:



IIIb-1.

En algunas realizaciones, X_4 es bromo.

5 En algunas realizaciones, se utilizan las condiciones de reacción de acoplamiento de Suzuki, usando catalizadores de paladio (0) o paladio (II) y se realizan en condiciones conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Miyaura y Suzuki, Chem. Rev. 1995, 95, 24572483).

10 En algunas realizaciones, el catalizador de paladio es 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno dicloropaladio (II) ($\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$). En algunas realizaciones, el catalizador de paladio está presente en una cantidad de aproximadamente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5 equivalentes, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,4 equivalentes, o aproximadamente 0,3 equivalentes.

15 En algunas realizaciones, la base es una base inorgánica. En algunas realizaciones, la base es una base orgánica. En algunas realizaciones, la base es una amina terciaria. En algunas realizaciones, la base es un carbonato de metal alcalino (por ejemplo, carbonato potásico o carbonato sódico).

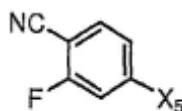
20 En algunas realizaciones, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 70 °C a aproximadamente 90 °C, de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 90 °C, o aproximadamente 86 °C. En algunas realizaciones, la reacción se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, dioxano. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula IIIb o IIIb-1 está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, o aproximadamente 1,3 equivalentes.

25 En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula IIIa haciendo reaccionar 1,2,4-triazina-3-amina con un agente de halogenación.

30 En algunas realizaciones, X_4 es bromo; y el agente de halogenación es N-bromosuccinimida. En algunas realizaciones, el agente de halogenación está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,1 equivalentes. En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar 1,2,4-triazina-3-amina mediante un proceso que comprende hacer reaccionar glioxal con aminoguanidina, o una sal de la misma.

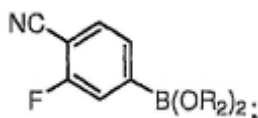
35 En algunas realizaciones, el proceso comprende además preparar el compuesto de Fórmula IIIb-1 mediante un proceso que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIIc:



IIIc

40 un reactivo de fórmula R_1MgY , seguido de la reacción con un compuesto de fórmula $\text{B}(\text{OR}_2)_3$ para formar un compuesto de Fórmula IIId:



IIId

45 y
b) después de la reacción en la etapa a), hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IIId con un ácido, seguido de la reacción con pinacol para formar el compuesto de Fórmula IIIb-1; en la que:

R₁ es alquilo C₁₋₆;
 cada R₂ es, independientemente, alquilo C₁₋₆; y
 X₅ es cloro, bromo, o yodo.

- 5 En algunas realizaciones, X₅ es bromo. En algunas realizaciones, R₁ es isopropilo. En algunas realizaciones, R₂ es metilo. En algunas realizaciones, el B(OR₂)₃ está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, o aproximadamente 1,4 equivalentes. En algunas realizaciones, la etapa a) se realiza a una temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 25 °C, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 16 °C.
- 10 En algunas realizaciones, el pinacol está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, o aproximadamente 2 equivalentes. En algunas realizaciones, la etapa b) se realiza a una temperatura de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 50 °C. En algunas realizaciones, la etapa b) se realiza en un disolvente, incluyendo, pero sin limitación, ciclohexano.
- 15 En algunas realizaciones, cualquiera de los productos intermedios descritos en las realizaciones en el presente documento pueden estar presentes en forma de la base libre. En algunas realizaciones, cualquiera de los productos intermedios descritos en las realizaciones del presente documento pueden estar presentes como una sal. En algunas realizaciones, los productos intermedios descritos en el presente documento son la forma de hidrato o solvato.
- 20 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona cualquiera de las etapas de proceso individuales o compuestos intermedios descritos anteriormente.
- 25 En diversos lugares en la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de compuestos se desvelan en grupo o en intervalos. Se pretende específicamente que los compuestos incluyan cada subcombinación individual de los miembros de dichos grupos e intervalos. Por ejemplo, el término "alquilo C₁₋₆" está destinado específicamente a desvelar individualmente metilo, etilo, alquilo C₃, alquilo C₄, alquilo C₅, y alquilo C₆.
- 30 Se aprecia además que ciertas características, que son, por razones de claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse junto con una única realización. Por el contrario, diversas características que se describen, para mayor brevedad, en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.
- 35 Como se usa en el presente documento, la expresión "opcionalmente sustituido" significa sin sustituir o sustituido. Como se usa en el presente documento, el término "sustituido" significa que un átomo de hidrógeno se retira y se reemplaza por un sustituyente. Se entiende que la sustitución en un átomo dado está limitada por valencia.
- 40 Como se usa en el presente documento, el término "alquilo C_{n-m}", empleado en solitario o junto con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarburo saturado que puede ser de cadena lineal o ramificada, que tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 12, de 1 a 8, de 1 a 6, o de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero sin limitación, grupos químicos, tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, isobutilo, sec-butilo, 2-metil-1-butilo, n-pentilo, 3-pentilo, n-hexilo, 1,2,2-trimetilpropilo, n-heptilo, n-octilo, y similares.
- 45 Como se usa en el presente documento, la expresión "anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros" en el contexto de un resto de fórmula -B(OR_a)₂, se refiere a un anillo monocíclico saturado con 5 o 6 miembros en el anillo que incluye los dos átomos de oxígeno y un átomo de boro, en el que los 2 o 3 miembros en el anillo son átomos de carbono.
- 50 Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a más o menos el 10 % del valor.
- 55 Como se usa en el presente documento, las expresiones, "temperatura ambiental" y "temperatura ambiente", como se usan en el presente documento, se entienden en la técnica, y se refieren generalmente a una temperatura, por ejemplo, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura de la habitación en la que se realiza la reacción, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.
- 60 Los procesos descritos en el presente documento pueden controlarse de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto puede controlarse por medios espectroscópicos, tales como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ¹H o ¹³C), espectroscopia de infrarrojos o espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible); o por cromatografía tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o cromatografía de capa fina (TLC).
- 65 Como se usa en el presente documento, el término "reacción" se usa como se conoce en la técnica y se refiere generalmente a la unión de reactivos químicos de tal manera que permita su interacción a nivel molecular para lograr una transformación química o física. En algunas realizaciones, la reacción implica dos reactivos, en la que uno

o más equivalentes de segundo reactivo se usan con respecto al primer reactivo. Las etapas de reacción de los procesos descritos en el presente documento pueden realizarse durante un tiempo y bajo condiciones adecuadas para preparar el producto identificado.

Los compuestos también pueden incluir formas salinas de los compuestos y productos intermedios descritos en el presente documento. Los ejemplos de sales (o formas de sal) incluyen, pero sin limitación, sales de ácidos minerales y orgánicos de residuos básicos, tales como aminas, sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos, tales como ácidos carboxílicos. Por lo general, las formas de sal pueden prepararse haciendo reaccionar la base o ácido libre con cantidades estequiométricas o con un exceso del ácido o base inorgánico u orgánico que forma una sal deseada en un disolvente adecuado o varias combinaciones de disolventes.

Los compuestos y productos intermedios también incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos desvelados en el presente documento. Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal formada por la adición de un ácido o base farmacéuticamente aceptable a un compuesto desvelado en el presente documento. Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que es aceptable para su uso en aplicaciones farmacéuticas desde una perspectiva toxicológica y no interactúa negativamente con el principio activo. Las sales farmacéuticamente aceptables, incluyendo mono y bisales, incluyen, pero sin limitación, las obtenidos a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como, pero sin limitación, acético, láctico, cítrico, cinnámico, tartárico, succínico, fumárico, maleico, malónico, mandélico, málico, oxálico, propiónico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, glicólico, pirúvico, metanosulfónico, etanosulfónico, toluenosulfónico, salicílico, benzoico, y ácidos aceptables conocidos de forma similar. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1997).

La preparación de compuestos puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. La necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados pueden ser determinadas fácilmente por un experto en la técnica. La química de grupos protectores puede encontrarse, por ejemplo, en Greene, et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 4ª Ed., Wiley & Sons, 2007.

Los ajustes de los grupos protectores y los métodos de formación y escisión descritos en el presente documento pueden ajustarse según sea necesario a la luz de los diversos sustituyentes.

Las reacciones de los procesos descritos en el presente documento pueden realizarse en disolventes adecuados que pueden seleccionarse fácilmente por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactantes), los intermedios, o productos a las temperaturas a las que se realizan las reacciones, por ejemplo, temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del disolvente hasta la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción dada puede llevarse a cabo en un disolvente o en una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción particular, se pueden seleccionar disolventes adecuados para una etapa de reacción particular. En algunas realizaciones, las reacciones pueden llevarse a cabo en ausencia de disolvente, tal como cuando al menos uno de los reactivos es un líquido o gas.

Los disolventes adecuados pueden incluir disolventes halogenados tales como tetracloruro de carbono, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromoformo, cloroformo, bromoclorometano, dibromometano, cloruro de butilo, diclorometano, tetracloroetileno, tricloroetileno, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2-tricloroetano, 1,1-dicloroetano, 2-cloropropano, α,α,α -trifluorotolueno, 1,2-dicloroetano, 1,2-dibromoetano, hexafluorobenceno, 1,2,4-triclorobenceno, 1,2-diclorobenceno, clorobenceno, fluorobenceno y mezclas de los mismos.

Los disolventes de éter adecuados incluyen: dimetoximetano, tetrahidrofurano, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, furano, éter dietílico, etilenglicol dimetil éter, etilenglicol dietil éter, dietilenglicol dimetil éter, dietilenglicol dietil éter, trietilenglicol dimetil éter, anisol, t-butil metil éter y mezclas de los mismos.

Los disolventes próticos adecuados pueden incluir, a modo de ejemplo y sin limitación, agua, metanol, etanol, 2-nitroetanol, 2-fluoroetanol, 2,2,2-trifluoroetanol, etilenglicol, 1-propanol, 2-propanol, 2-metoxietanol, 1-butanol, 2-butanol, alcohol i-butílico, alcohol t-butílico, 2-etoxietanol, dietilenglicol, 1-, 2-, o 3-pentanol, alcohol neo-pentílico, alcohol t-pentílico, dietilenglicol monometil éter, dietilenglicol monoetil éter, ciclohexanol, alcohol bencilico, fenol, o glicerol.

Los disolventes apróticos adecuados pueden incluir, a modo de ejemplo y sin limitación, tetrahidrofurano (THE), N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA), 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinona (DMPU), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMI), N-metilpirrolidinona (NMP), formamida, N-metilacetamida, N-metilformamida, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, propionitrilo, formiato de etilo, acetato de metilo, hexacloroacetona, acetona, etil metil cetona, acetato de etilo, sulfolano, N,N-dimetilpropionamida, tetrametilurea, nitrometano, nitrobenzono, o hexametilfosforamida.

Los disolventes de hidrocarburo adecuados incluyen benceno, ciclohexano, pentano, hexano, tolueno, cicloheptano, metilciclohexano, heptano, etilbenceno, m-, o-, o p-xileno, octano, indano, nonano, o naftaleno.

También se pueden usar dióxido de carbono supercrítico y líquidos iónicos como disolventes.

Las reacciones de los procesos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo a temperaturas apropiadas que pueden ser fácilmente determinadas por el experto en la técnica. Las temperaturas de reacción dependerán, por ejemplo, de los puntos de fusión y de ebullición de los reactivos y del disolvente, si están presentes; la termodinámica de la reacción (por ejemplo, las reacciones vigorosamente exotérmicas pueden necesitar ser realizadas a temperaturas reducidas); y la cinética de la reacción (por ejemplo, una barrera de alta energía de activación puede necesitar temperaturas elevadas). "Temperatura elevada" se refiere a temperaturas por encima de la temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C).

Las reacciones de los procesos descritos en el presente documento pueden realizarse en aire o en una atmósfera inerte. Típicamente, las reacciones que contienen reactivos o productos que son sustancialmente reactivos con el aire pueden realizarse usando técnicas sintéticas sensibles al aire que se conocen bien por los expertos en la técnica.

En algunas realizaciones, la preparación de compuestos puede implicar la adición de ácidos o bases para efectuar, por ejemplo, catálisis de una reacción deseada o formación de formas de sales tales como sales de adición de ácido.

Los ácidos ejemplares pueden ser ácidos inorgánicos u orgánicos. Los ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y ácido nítrico. Los ácidos orgánicos incluyen ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butanoico, ácido benzoico, ácido 4-nitrobenzoico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido tartárico, ácido trifluoroacético, ácido propiólico, ácido butírico, ácido 2-butinoico, ácido vinil acético, ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido octanoico, ácido nonanoico y ácido decanoico.

Las bases ejemplares incluyen hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato de litio, carbonato sódico, y carbonato potásico. Algunas bases fuertes ejemplares incluyen, pero sin limitación, hidróxido, alcóxidos, amidas metálicas, hidruros metálicos, dialquilamidas metálicas y arilaminas, en las que; los alcóxidos incluyen sales de litio, sodio y potasio de metilo, óxidos de etilo y t-butilo; las amidas metálicas incluyen amida sódica, amida potásica y amida de litio; los hidruros metálicos incluyen hidruro sódico, hidruro potásico e hidruro de litio; y las dialquilamidas metálicas incluyen sales de sodio y potasio de metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo, trimetilsililo y amidas sustituidas con ciclohexilo.

Tras realizar la preparación de compuestos de acuerdo con los procesos descritos en el presente documento, las operaciones habituales de aislamiento y purificación tales como la concentración, filtración, extracción, extracción en fase sólida, recristalización y cromatografía, pueden usarse para aislar los productos deseados.

Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, las sales de la invención pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas, tal como una sal de la invención combinada con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se pueden preparar de una manera bien conocida en las técnicas farmacéuticas, y pueden administrarse por una diversidad de vías, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica (incluyendo oftálmica y a las membranas mucosas, incluyendo administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo por nebulizador, intratraqueal, intranasal, epidérmico y transdérmico), ocular, oral o parenteral. Los métodos para la administración ocular pueden incluir administración tópica (gotas para los ojos), inyección subconjuntival, periocular o intravítrea o introducción por catéter con balón o insertos oftálmicos colocados quirúrgicamente en el saco conjuntival. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o administración intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede estar en forma de una única dosis en bolo, o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones farmacéuticas y las formulaciones para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, pulverizadores, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo o aceitosas, espesantes y similares.

Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como el principio activo, una sal de la invención anterior junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En la preparación de las composiciones de la invención, el principio activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye por un excipiente o se encierra dentro de tal vehículo en forma de, por ejemplo, una cápsula, sobrecito, papel, u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como un diluyente, puede ser un material sólido, semi-sólido, o líquido, que actúa como un vehículo, transportador o medio para el principio activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar

en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas para chupar, sobrecitos, obleas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (en forma de un sólido o en un medio líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, y polvos envasados estériles.

En la preparación de una formulación, el compuesto activo puede molerse para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarse con los demás ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler hasta un tamaño de partícula de malla de menos de 200. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula puede ajustarse por molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, malla de aproximadamente 40.

La sal de la invención se puede moler usando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de la sal de la invención se pueden preparar mediante procesos conocidos en la técnica, por ejemplo, véase la Solicitud de Patente Internacional N.º WO 2002/000196.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato cálcico, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, y metil celulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes de lubricación tales como talco, estearato de magnesio, y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes, tales como metil y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes saporíferos. Las composiciones de la invención pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosificación de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg, más usualmente de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 mg, del principio activo. La expresión "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

El compuesto activo puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosificación y se administra generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Se entenderá, sin embargo, que la cantidad del compuesto administrado realmente será determinada por un médico, de acuerdo con las circunstancias relevantes, incluyendo la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso y respuesta del paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición sólida de preformulación que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el principio activo se dispersa típicamente uniformemente a través de la composición de manera que la composición pueda subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitaria igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide entonces en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de 0,1 a aproximadamente 500 mg del principio activo de la presente invención.

Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden recubrirse o combinarse de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación exterior, estando esta última en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden separarse por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permitir que el componente interior pase intacto al duodeno o se retrase en su liberación. Pueden usarse una diversidad de materiales para tales capas entéricas o recubrimientos, incluyendo dichos materiales una serie de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con dichos materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que pueden incorporarse los compuestos y composiciones de la presente invención para administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados adecuadamente, suspensiones acuosas u oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco, o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se ha descrito anteriormente. En

algunas realizaciones, las composiciones se administran por la vía respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización se puede unir a una máscara facial, o una máquina de respiración de presión positiva en tienda o intermitente. Las composiciones en solución, suspensión o polvo pueden administrarse por vía oral o nasal a partir de dispositivos que administran la formulación de una manera apropiada.

La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se administre, el fin de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se pueden administrar a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar, o al menos detener parcialmente, los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis eficaces dependerán de la patología que se esté tratando, así como del juicio del clínico asistente, dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente, y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas se pueden envasar para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. Se entenderá que el uso de algunos de los excipientes, vehículos o estabilizantes anteriores dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica de la sal de la presente invención puede variar según, por ejemplo, el uso particular para el que se realiza el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y la afección del paciente, y el criterio del médico tratante. La proporción o concentración de la sal de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de un número de factores incluyendo la dosificación, características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, la sal de la invención puede proporcionarse en una solución tampón fisiológica acuosa que contiene de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10 % p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal al día. En algunas realizaciones, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y extensión de la progresión de la enfermedad o trastorno, el estado general de salud del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de ensayo de modelos in vitro o animales.

Las sales de la invención también pueden formularse en combinación con uno o más principios activos adicionales que pueden incluir cualquier agente farmacéutico tal como agentes antiviricos, vacunas, anticuerpos, potenciadores inmunes, inmunosupresores y agentes antiinflamatorios.

Compuestos marcados y métodos de ensayo

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un colorante fluorescente, una etiqueta espín, un metal pesado o una sal radiomarcada de la invención que será útil no sólo en la formación de imágenes, sino también en ensayos, tanto in vitro como in vivo, para localizar y cuantificar la diana de proteína cinasa en muestras de tejido, incluyendo humanas, y para identificar ligandos de cinasa por unión de inhibición de un compuesto marcado. Por consiguiente, también se describen en el presente documento ensayos de enzimas cinasas que contienen la sal marcada.

También se incluyen compuestos marcados isotópicamente de los compuestos de la invención. Un compuesto "isotópicamente" marcado o "radiomarcado", es un compuesto de la invención en el que uno o más átomos están reemplazados o sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente al de la masa atómica o un número de masa típicamente encontrado en la naturaleza (es decir, de origen natural). Los radionúclidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, ^2H (también escrito como D para deuterio), ^3H (también escrito como T para tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . El radionúclido que se incorpora en los presentes compuestos radiomarcados dependerá de la aplicación específica de ese compuesto radiomarcado. Por ejemplo, para los ensayos de etiquetado y competición in vitro, los compuestos que incorporan ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ^{31}S generalmente serán más útiles. Para las aplicaciones de radioimagen, ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br serán generalmente más útiles.

Se entiende que un compuesto "radiomarcado" o "compuesto marcado" es un compuesto que ha incorporado al menos un radionúclido. En algunas realizaciones, el radionúclido se selecciona del grupo que consiste en ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

Los métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en compuestos orgánicos son aplicables a compuestos de la invención y son bien conocidos en la técnica.

Una sal radiomarcada de la invención puede usarse en un ensayo de selección para identificar/evaluar compuestos.

En términos generales, se puede evaluar un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, compuesto de ensayo) para determinar su capacidad para reducir la unión de la sal radiomarcada de la invención a la enzima. Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de ensayo para competir con la sal radiomarcada para la unión a la enzima se correlaciona directamente con su afinidad de unión.

Kits

También se describen en el presente documento kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades, tales como cáncer y otras enfermedades a las que se hace referencia en el presente documento, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la sal de la invención. Dichos kits pueden incluir además, si se desea, uno o más de diversos componentes en kit farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será evidente fácilmente para los expertos en la técnica. También se pueden incluir en el kit instrucciones, ya sea como insertos o como etiquetas, indicando cantidades de los componentes a administrar, directrices para la administración y/o directrices para mezclar los componentes.

La invención se describirá con más detalle por medio de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, y no pretenden limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una diversidad de parámetros no críticos que pueden cambiarse o modificarse para producir esencialmente los mismos resultados.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de sal de ácido diclorhídrico de 2-Fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida

Una suspensión de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida (421,2 g, 1,021 mol) (véase el documento de Estados Unidos N.º de serie 11/942.130 para su preparación, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad) en metanol (MeOH, 6600 ml) se calentó a 55 °C antes de añadir gota a gota una solución premezclada de ácido clorhídrico acuoso concentrado (HCl conc., 37 % en peso, 12 M, 420 ml, 5,10 mol, 5,0 equiv.) en alcohol isopropílico (IPA, 1510 ml) a 55 °C. La solución transparente resultante se agitó a 55 °C durante 30 min antes de añadir metil terc-butil éter (MTBE, 6750 ml) mediante un embudo de adición durante 30 min. Los sólidos se eliminaron por precipitación lentamente después de la adición de metil terc-butil éter. La mezcla resultante se agitó a 55 °C durante 1 h más antes de enfriarse gradualmente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con metil terc-butil éter (MTBE, 3 x 500 ml), y se secaron en una estufa de vacío a 45 - 55 °C con respecto a un peso constante. El diclorhidrato de 2-fluoro-N metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida deseado (470,7 g, 495,5 g teóricos, rendimiento del 95 %) se obtuvo en forma de un sólido cristalino de color blanquecino a amarillo claro. P.f. (descom.) 222 °C; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,46 (s, 1H), 9,25 (dd, 1H, J = 5,4 Hz, 1,4 Hz), 9,12 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 8,51 (m, 1H), 8,47 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 8,34 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 8,23 (s, 1H), 8,21 (dd, 1H, J = 9,0 Hz, 1,8 Hz), 8,09-8,02 (m, 3H), 7,79 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, 8,3 Hz), 4,77 (s, 2H), 2,78 (s, 3H, J = 4,5 Hz); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 163,4, 159,4 (d, J = 249,9 Hz), 145,8, 145,4, 144,5, 143,8, 140,4, 138,8, 136,8, 135,9, 135,7 (J = 8,6 Hz), 131,2 (J = 3,1 Hz), 130,7, 128,7, 128,2, 126,2 (J = 14,9 Hz), 126,0, 123,1 (J = 3 Hz), 122,5, 121,0, 114,9 (J = 5,6 Hz), 28,4, 26,3; ¹⁹F RMN (376,3 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -113,2; C₂₃H₁₇FN₆O (base libre, MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 (M⁺ + H) y 435,0 (M⁺ + Na).

Ejemplo 2

Difracción de polvo de rayos X de la sal de ácido diclorhídrico

El análisis XRPD se realizó usando un instrumento difractómetro de polvo de rayos X Rigaku MiniFlex (la radiación de rayos X es de sobre (Cu) a 1,054056 Å con filtro Kβ, Ángulo de inicio - 3; Ángulo de detención - 45; Muestreo - 0,02; Velocidad de exploración - 2). El polvo de muestra se dispersó sobre un portamuestras de fondo cero. El patrón XRPD de la sal de ácido diclorhídrico preparada por el proceso del Ejemplo 1 se proporciona en la figura 1. Se proporcionan valores de pico dos-theta en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

2-Theta	Altura	% de H
3,8	58	4
6,0	57	3,9
7,8	403	27,7
9,1	86	5,9
12,0	584	40,1
12,6	371	25,5
14,3	202	13,9
14,9	306	21
15,9	346	23,8
16,3	277	19
17,4	247	17
18,2	1367	93,9
20,0	283	19,5
20,5	212	14,6
21,4	240	16,5
21,8	60	4,1
22,4	314	21,6
23,3	281	19,3
23,9	176	12,1
24,7	1362	93,6
25,4	81	5,6
26,0	1456	100
27,1	226	15,5
27,4	138	9,5
28,0	142	9,8
29,3	962	66,1
30,5	165	11,3
31,0	502	34,5
31,9	76	5,3
33,0	485	33,3
33,4	285	19,6
34,5	166	11,4
35,4	78	5,4
36,2	381	26,1
37,2	449	30,9
38,4	190	13,1
39,8	82	5,7
40,5	79	5,4
42,4	99	6,8
43,7	107	7,4

Ejemplo 3

5

Calorimetría diferencial de barrido de la sal de ácido diclorhídrico

10

La sal de ácido diclorhídrico preparada por el proceso del Ejemplo 1 está caracterizada por la traza DSC mostrada en la figura 2. El termograma DSC reveló un evento endotérmico con aparición de pico a 216,1 °C y un pico a 221,91 °C. Los experimentos se realizaron en un instrumento de calorimetría diferencial de barrido (DSC) Mettler Toledo 822, con un recipiente de muestras de aluminio (40 µl), una temperatura inicial de 30 °C a una temperatura final de 280 °C usando una velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

Ejemplo 4

Análisis termogravimétrico de la sal de ácido diclorhídrico

La sal de ácido diclorhídrico preparada por el proceso del Ejemplo 1 está caracterizada por el análisis TGA mostrado en la figura 3. El TGA mostró una pérdida de peso significativa que comenzaba a 150 °C cuando la muestra se calentó de 20 °C a 600 °C a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min. Esto estaba seguido de un evento exotérmico con un pico a 221,9 °C que se creyó que era el pico de fusión. Los experimentos se realizaron en un instrumento TA Q500.

Ejemplo 5

Preparación de sal de ácido dibencenosulfónico de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida

Una suspensión de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida (500 mg, 1,212 mmol) en metanol (MeOH, 12 ml) se calentó a 55 °C antes de añadir gota a gota una solución premezclada de ácido benzenosulfónico (578 mg, 3,65 mmol, 3,01 equiv.) en alcohol isopropílico (IPA, 3,66 ml) a 55 °C. La solución transparente resultante se agitó a 55 °C durante 30 min antes de añadir gota a gota metil terc-butil éter (MTBE, 12 ml) a través de un embudo adicional. Los sólidos se eliminaron por precipitación lentamente después de la adición de metil terc-butil éter. La mezcla resultante se agitó a 55 °C durante una hora más antes de enfriarse gradualmente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con metil terc-butil éter (MTBE, 2 x 10 ml), y se secaron en una estufa de vacío a 45 - 55 °C con respecto a un peso constante. El producto de ácido dibencenosulfónico deseado (848 mg, 883,3 mg teóricos, rendimiento del 96 %) se obtuvo en forma de sólidos cristalinos de color blanquecino. P.f. (descom.) 270,5 °C; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,51 (s, 1H), 9,30 (dd, 1H, J = 5,4 Hz, 1,4 Hz), 9,13 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 8,45 (m, 1H), 8,36 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 8,30 (s, 1H), 8,21 (dd, 2H, J = 9,0 Hz, 1,8 Hz), 8,10 - 8,04 (m, 3H), 7,80 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, 8,3 Hz), 7,62 - 7,56 (m, 4H), 7,33 - 7,27 (m, 6H), 4,79 (s, 2H), 2,78 (d, 3H, J = 4,5 Hz); ¹⁹F RMN (376,3 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -113,2; C₂₃H₁₇FN₆O (base libre, MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,0 (M⁺ + H) y 435,0 (M⁺ + Na).

Ejemplo 6

Difracción de polvo de rayos X de la sal de ácido dibencenosulfónico

El análisis XRPD se realizó usando un instrumento difractómetro de polvo de rayos X Rigaku MiniFlex (la radiación de rayos X es de sobre (Cu) a 1,054056 Å con filtro Kβ, Ángulo de inicio - 3; Ángulo de detención - 45; Muestreo - 0,02; Velocidad de exploración - 2). El patrón XRPD de la sal preparada por el proceso del Ejemplo 5 se proporciona en la figura 4. Se proporcionan valores de pico dos-theta en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2

2-Theta	Altura	% de H
4,9	688	100
9,9	163	23,7
11,1	169	24,6
13,8	226	32,9
15,0	441	64,1
16,3	378	54,9
16,7	262	38,1
17,6	53	7,7
18,3	430	62,5
19,0	46	6,6
20,2	661	96,1
22,2	284	41,3
22,8	93	13,6

2-Theta	Altura	% de H
23,8	460	66,8
24,8	244	35,5
25,2	306	44,5
26,7	237	34,4
27,0	212	30,9
29,4	95	13,8
30,4	66	9,6
31,1	47	6,8
31,9	39	5,6
33,0	54	7,8
34,1	75	10,8
34,8	42	6,2
35,1	43	6,3
40,0	48	7
40,5	58	8,4
42,1	35	5

Ejemplo 7

Calorimetría diferencial de barrido de la sal de ácido dibencenosulfónico

La sal de ácido dibencenosulfónico preparada por el proceso del Ejemplo 5 está caracterizada por la traza DSC mostrada en la figura 5. El termograma DSC reveló un evento endotérmico con una aparición de pico a 269,4 °C seguido de un evento exotérmico con un pico a 270,45 °C. Los experimentos se realizaron en un instrumento de calorimetría diferencial de barrido (DSC) Mettler Toledo 822, una temperatura inicial de 30 °C a una temperatura final de 280 °C usando una velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

Ejemplo 7A

Características físicas de la sal de ácido dibencenosulfónico

La sal ácido dibencenosulfónico es generalmente un polvo de color blanquecino a amarillo claro en una inspección visual contra un fondo de color blanco.

Ejemplo 7B

Solubilidad de la sal de ácido dibencenosulfónico

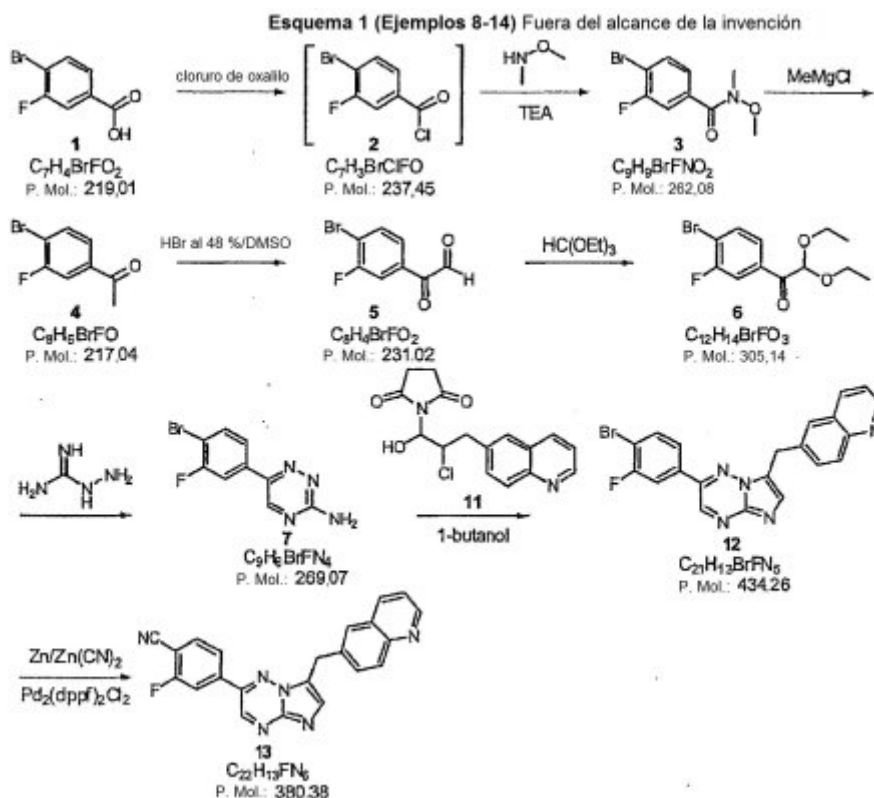
La sal ácido dibencenosulfónico se obtiene generalmente en forma de un polvo de color blanquecino a amarillo claro en una inspección visual contra un fondo de color blanco. La solubilidad de la sal de ácido dibencenosulfónico a 25 °C se encontró en aproximadamente 3,9 mg/ml en agua; 0,003 mg/ml en tampón a pH 7,4; 0,003 mg/ml en tampón a pH 8,0; y al menos 29 mg/ml en HCl acuoso 0,1 N.

La solubilidad en equilibrio se determinó mezclando la muestra en los disolventes acuosos seleccionados (HCl 0,1 N, agua, tampón a pH 7,4, y tampón a pH 8,0) durante al menos 12 horas. Después, la concentración de muestra se determinó por HPLC usando una calibración de un único punto.

Ejemplo 8

4-Bromo-3-fluoro-N-metoxi-N-metilbenzamida (3)

A una suspensión de ácido 4-bromo-3-fluorobenzoico (1, 967,9 g, 4,4 mol) en diclorometano (5,9 l) y DMF (21 ml) se le añadió lentamente una solución de cloruro de oxalilo ((COCl)₂, 560 ml, 6,4 mol, 1,45 equiv.) en diclorometano (520 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 h y después se enfrió a 0 °C por un baño de hielo-agua. Se añadió clorhidrato de N,O-dimetil hidroxilamina (826 g, 8,4 mol, 1,9 equiv.) seguido de la adición lenta de trietilamina (TEA, 2,5 l, 17,7 mol, 4,0 equiv.) a 0 °C. Después, la mezcla de reacción se calentó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Una vez se completó la reacción de acoplamiento, la mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (NaHCO₃, 2 l). La fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (1 l). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 l) y salmuera (1 l), y se concentraron a presión reducida. El residuo sólido resultante se disolvió en metil terc-butil éter (MTBE, 5 l), se lavó secuencialmente con agua (5 x 1 l) y salmuera (1 l), y se secó sobre sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄). La solución filtrada se concentró a presión reducida y el sólido resultante se secó en una estufa de vacío a 45 °C para proporcionar 4-bromo-3-fluoro-N metoxi-N-metilbenzamida (3, 1106 g, 1153 g teóricos, rendimiento del 95,9 %) que se usó para la reacción posterior sin purificación adicional. Para 3: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,78 (t, 1H, J = 7,47 Hz), 7,56 (dd, 1H, J = 9,3, 1,6 Hz), 7,18 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 3,53 (s, 3H), 3,25(s, 3H); C₉H₆BrFNO₂ (MW 262,08), LCMS (EI) m/e 262,0/ 264,0 (M⁺ + H).



Ejemplo 9

1-(4-Bromo-3-fluorofenil)etanona (4)

A una solución de 4-bromo-3-fluoro-N-metoxi-N-metilbenzamida en bruto (3, 1106 g, 4,2 mol) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 11 l) se le añadió lentamente una solución 3,0 M de cloruro de metilmagnesio (MeMgCl, 2,5 l, 7,5 mol, 1,7 equiv.) en THF a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 0 °C durante 2 h y después se inactivó muy cuidadosamente con cloruro de amonio acuoso saturado (NH₄Cl, 1,5 l). La solución resultante se concentró a presión reducida para retirar la mayor parte de THF. El residuo después se diluyó con acetato de etilo (EtOAc, 5 l) y la solución resultante se lavó con agua (2 l). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (EtOAc, 2 x 2 l). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 l) y salmuera (2 l) y se secaron sobre sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄). La solución filtrada se concentró a presión reducida y el sólido resultante se secó en una estufa de vacío a 45 °C para proporcionar 1-(4-bromo-3-fluorofenil)etanona (4, 890,8 g, 911,6 g teóricos, rendimiento del 97,7 %) en forma de un sólido que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. Para 4: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,89-7,84 (m, 2H), 7,71 (dd, 1H, J = 8,30, 1,87 Hz), 2,57 (s, 3H).

Ejemplo 10

2-(4-Bromo-3-fluorofenil)-2-oxoacetaldehído (5)

- 5 A una solución de 1-(4-bromo-3-fluorofenil)etanona (4, 890,8 g, 4,1 mol) en DMSO (4 l) se le añadió lentamente una solución acuosa al 48 % de hidrogenobromuro (HBr, 1420 ml, 12,5 mol, 3,0 equiv.). La temperatura de reacción se aumentó gradualmente de 20 °C a 50 °C durante el transcurso de la adición. Después, la mezcla de reacción se calentó a 60 °C y se agitó a 60 °C durante una noche. El sulfuro de dimetilo resultante se retiró por destilación y el residuo se vertió en agua enfriada con hielo (28 l). El precipitado de color amarillo resultante se recogió por filtración (guardar el filtrado) y se lavó con agua (5 l). El sólido de color amarillo se disolvió en acetato de etilo (EtOAc, 5 l), se lavó con salmuera (1 l) y se secó sobre sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄). Después, la solución se concentró a presión reducida y el sólido resultante se secó en una estufa de vacío a 45 °C para dar el producto deseado, 2-(4-bromo-3-fluorofenil)-2-oxoacetaldehído, en forma de su hidrato (hidrato de 5, 730,6 g, 1020,9 g teóricos, rendimiento del 71,6 %). La fase acuosa (filtrado) se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 l) y la fase orgánica combinada se lavó con agua (2 x 2 l) y salmuera (2 l) y se secó sobre sulfato sódico anhidro (Na₂SO₄). La solución se concentró a presión reducida y el sólido resultante se secó en una estufa de vacío a 45 °C para dar el segundo extracto de 2-(4-bromo-3-fluorofenil)-2-oxoacetaldehído hidrato (hidrato de 5, 289,4 g, 1020,9 g teóricos, rendimiento del 28,3 %; total 1020 g, 1020,9 g teóricos, rendimiento del 99,9 %) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. Para el hidrato de 5: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,00-7,70 (m, 3H), 6,69 (s a, 2H), 5,59 (s, 1H).

Ejemplo 11

1-(4-Bromo-3-fluorofenil)-2,2-dietoxietanona (6)

- 25 Un matraz de 22 l se cargó con el hidrato de (4-bromo-3-fluorofenil)-2-oxoacetaldehído (5, 1020 g, 4,41 mol), tolueno (7,5 l), ortoformiato de trietilo (1633 g, 1,8 l, 11,04 mol, 2,5 equiv.), ácido para-tolueno sulfónico (33,5 g, 0,176 mol, 0,4 equiv.) a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción resultante se calentó a 110 °C y se agitó a 110 °C durante 6 h. Cuando el análisis por HPLC mostró la reacción se había completado, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de verse en un embudo de separación de 50 l junto con acetato de etilo (7,5 l) y la solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (NaHCO₃, 3 l). La mezcla se agitó y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (4 l), se secaron con sulfato sódico (Na₂SO₄), y se concentraron a presión reducida para proporcionar 1-(4-bromo-3-fluorofenil)-2,2-dietoxietanona en bruto (6, 1240 g, 1345,7 g teóricos, rendimiento del 92,1 %) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. Para 6: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,94-7,94 (m, 2H), 7,78 (dd, 1H, J = 8,51,2,08 Hz), 5,40 (s, 1H), 3,77-3,60 (m, 4H), 1,16-1,14 (m, 6H).

Ejemplo 12

6-(4-Bromo-3-fluorofenil)-1,2,4-triazin-3-amina (7)

- 40 Un matraz de 22 l se cargó con 1-(4-bromo-3-fluorofenil)-2,2-dietoxietanona (6, 1240 g, 4,07 mol), etanol (11 l), agua (1,4 l), hidróxido potásico (KOH, 910 g, 16,3 mol, 4,0 equiv.), y bicarbonato de aminoguanidina (1105 g, 8,13 mol, 2,0 equiv.) a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción resultante se calentó a 75 °C durante 14 h. Cuando el análisis por HPLC mostró que la reacción de condensación se había considerado completa, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de filtrarse. Después, el filtrado se concentró a presión reducida para retirar la mayor parte de los disolventes. La solución acuosa residual se extrajo con acetato de etilo (EtOAc, 3 x 6 l). Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar un sólido de color pardo oscuro. Este sólido se disolvió en etanol (4 l) y la solución resultante se trató con una solución acuosa 0,2 M de ácido clorhídrico (4 l). La suspensión resultante se calentó posteriormente a 50 °C durante 6 h antes de dejarse enfriar a temperatura ambiente. Una solución de una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (NaHCO₃, 2 l) se añadió lentamente a la suspensión, y la mezcla resultante se concentró después a presión reducida para retirar la mayor parte de los disolventes. Después, el residuo acuoso se trató con acetato de etilo (20 l) para disolver los sólidos. Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 2 l). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. Los sólidos de color pardo oscuro se trataron con metil terc-butil éter (MTBE, 4 l) y la suspensión resultante se calentó a 30 °C y se agitó a 30 °C durante 30 min. La mezcla se filtró y los sólidos (de color verde a naranja) se recogieron (guardar el filtrado) y se lavaron con metil terc-butil éter (MTBE, 2 l) para dar el primer extracto del producto deseado en bruto (7). El filtrado se evaporó a presión reducida, y los sólidos de color pardo oscuro resultantes se trataron con metil terc-butil éter (MTBE, 2 l). La suspensión resultante se calentó a 30 °C y se agitó a 30 °C durante 30 min. La mezcla se filtró para dar el segundo extracto del producto en bruto deseado (7) que se lavó con MTBE (1 l). Los sólidos combinados se secaron al vacío a 40 - 45 °C para proporcionar 6-(4-bromo-3-fluorofenil)-1,2,4-triazin-3-amina (7, 585 g, 1095,1 g teóricos, rendimiento del 53,4 %) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. Para 7: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,86 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, J = 10,79 Hz), 7,81 (m, 2H), 7,52 (s a, 2H); C₉H₆BrFN₄ (MW 269,07), LCMS (EI) m/e 269,0/271,1 (M⁺ + H).

Ejemplo 13

6-((2-(4-Bromo-3-fluorofenil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-7-il)metil)quinolina (12)

5 1-(2-Cloro-1-hidroxi-3-(quinolin-6-il)propil)pirrolidin-2,5-diona (11, 228 g, 0,74 mol, 1,1 equiv.) y 6-(4-bromo-3-fluorofenil)-1,2,4-triazin-3-amina (7, 181 g, 0,673 mol) se suspendieron en 1-butanol (1800 ml) y la suspensión resultante se calentó a 110 °C y se agitó a 110 °C durante 18 h (la mezcla de reacción se volvió homogénea en este punto). Después, la mezcla de reacción se enfrió gradualmente a temperatura ambiente antes de enfriarse adicionalmente a 10 °C en un baño de hielo. El sólido de color amarillo resultante se recogió por filtración (guardar los filtrados de 1-butanol), se lavó con 1-butanol frío (3 x 100 ml) y se secó por succión. Después, este sólido se suspendió en la solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (NaHCO₃, 500 ml) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para neutralizar la sal clorhidrato correspondiente. Después, la base libre se filtró, se lavó con agua (500 ml) y se secó en una estufa de vacío a 45 °C durante 18 h para proporcionar el primer extracto de la 6-((2-(4-bromo-3-fluorofenil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-7-il)metil)quinolina en bruto (12, 125,1 g, 292,3 g teóricos, rendimiento del 42,8 %). Después, los filtrados de 1-butanol se concentraron a presión reducida y los sólidos resultantes se disolvieron en diclorometano (CH₂Cl₂, 2 l). La solución se lavó con la una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (NaHCO₃, 1 l), se secó sobre sulfato sódicos (Na₂SO₄), y se concentró a presión reducida. Después, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, elución en gradiente de MeOH al 0 - 10 %-CH₂Cl₂) para proporcionar el segundo extracto de 6-((2-(4-bromo-3-fluorofenil)imidazo[1,2-b][1,2,4] triazin-7-il)metil)-quinolina (12, 19,7 g, 292,3 g teóricos, rendimiento del 6,7 %; total 144,8 g, 292,3 g teóricos, rendimiento del 49,5 %) en forma de sólidos de color amarillo. Para 12: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,23 (s, 1H), 9,11 (dd, 1H, J = 4,98, 1,55 Hz), 8,85 (d, 1H, J = 8,09 Hz), 8,25 - 8,18 (m, 2H), 8,12 - 8,00 (m, 3H), 7,93 - 7,86 (m, 3H), 4,70 (s, 2H); C₂₁H₁₃BrFN₅ (MW 434,26), LCMS (EI) m/e 434,00/435,95 (M⁺ + H).

Ejemplo 14

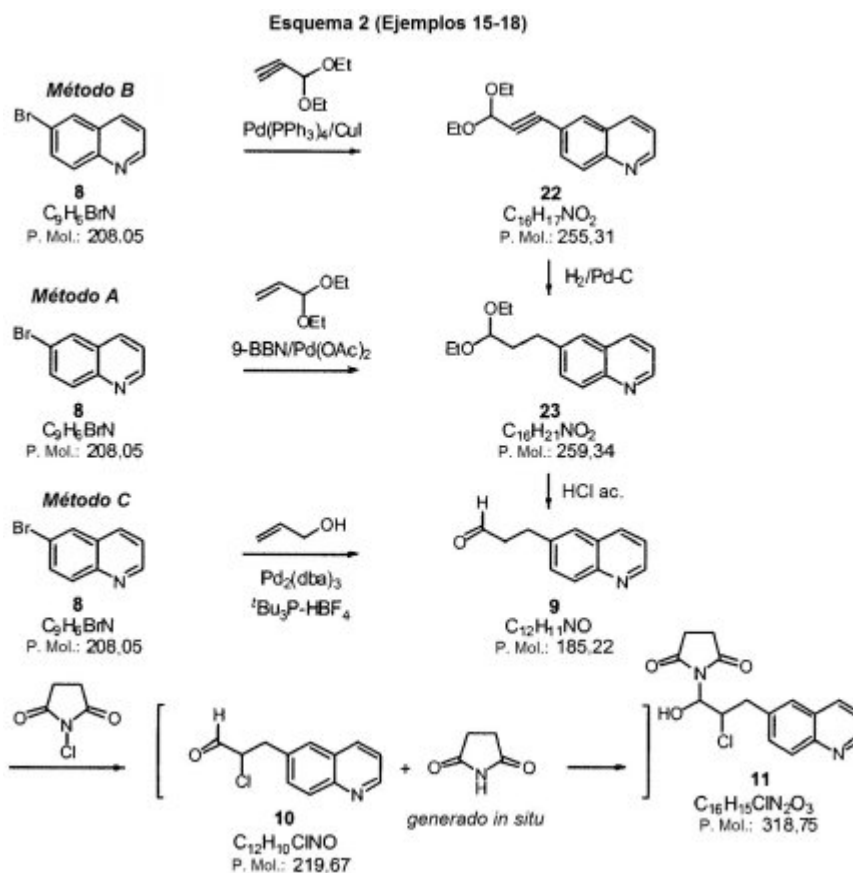
2-Fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzonitrilo (13)

30 6-((2-(4-Bromo-3-fluorofenil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-7-il)metil)quinolina (12, 200 g, 0,461 mol), cianuro de cinc (ZnCN₂, 32,7 g, 0,277 mol, 0,6 equiv.), polvo de cinc (Zn, 6,0 g, 0,093 mol, 0,2 equiv.) y Pd(dppf)₂Cl₂ (22,6 g 0,028 mol, 0,06 equiv.) se suspendieron en una solución premezclada de N,N-dimetil acetamida (DMAC, 2000 ml) y agua (H₂O, 40 ml). Después, la suspensión resultante se desgasificó con una corriente de nitrógeno durante 20 min antes de calentarse a 110 °C y se agitó a 110 °C durante 1 - 2 h (se observó una solución homogénea). Cuando el análisis por LC/MS indicó que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió en primer lugar a temperatura ambiente y después en un baño de hielo a 5 °C. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con una mezcla de la solución acuosa saturada de cloruro de amonio (NH₄Cl ac.), la solución acuosa concentrada de hidróxido de amonio (NH₄OH ac.), y agua (4:1:4 en volumen, 8,1 l) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Los sólidos resultantes se recogieron por filtración y se secaron en una estufa de vacío durante una noche a 45 °C para proporcionar el producto en bruto deseado (13). Después, este material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, elución en gradiente con trietilamina al 1 % en diclorometano, acetona al 2,5 % y trietilamina al 1 % en diclorometano, acetona al 5,0 % y trietilamina al 1 % en diclorometano, y acetona al 10,0 % y trietilamina al 1 % en diclorometano secuencialmente) para proporcionar el 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)-imidazo[1,2-b][1,2,4] triazin-2-il)benzonitrilo puro (13, 127,4 g, 175,4 g teóricos, rendimiento del 72,6 %) en forma de sólidos de color amarillo. Para 13: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,24 (s, 1 H), 8,81 (dd, 1H, J = 4,15, 1,66 Hz), 8,26 - 8,12 (m, 4H), 8,02 (s, 1H), 7,95 - 7,93 (m, 2H), 7,76 (dd, 1H, J = 8,71, 2,08 Hz), 7,47 (dd, 1H, J = 8,70, 4,15 Hz), 4,62 (s, 2H); C₂₂H₁₃FN₆ (MW 380,38), LCMS (EI) m/e 381,0 (M⁺ + H).

Ejemplo 15

6-(3,3-Dietoxiprop-1-inil)quinolina (22)

Una mezcla de 6-bromoquinolina (8, 2,63 g, 12,6 mmol), propargilaldehído dietil acetal (3,73 ml, 25,2 mmol, 2,0 equiv.), trietilamina (TEA, 12,7 ml, 90,8 mmol, 7,2 equiv.), yoduro de cobre (I) (CuI, 24,0 mg, 0,126 mmol, 0,01 equiv.), y trifenilfosfina (PPh₃, 0,39716 g, 1,5142 mmol, 0,12 equiv.) en N,N-dimetilformamida (DMF, 15,6 ml, 202 mmol) se desgasificó con burbujeo de nitrógeno durante 5 min. Se añadió acetato de paladio (Pd(OAc)₂, 0,08499 g, 0,3786 mmol, 0,03 equiv.) y la mezcla se desgasificó con burbujeo de nitrógeno durante 5 min. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C en una atmósfera de nitrógeno con agitación. Después de 3 h y 10 min, el análisis por HPLC indicó que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (EtOAc, 100 ml) y se lavó con agua (H₂O, 2 x 100 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (EtOAc, 20 ml). Después, los extractos orgánicos combinados se concentraron a presión reducida para dar el producto en bruto en forma de un aceite de color negro. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 0 - 40 % en elución en gradiente de hexano) para proporcionar 6-(3,3-dietoxiprop-1-inil)quinolina (22, 3,2 g, 3,22 g teóricos, rendimiento del 99 %) en forma de un aceite incoloro. Para 22: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,92 (dd, 1H, J=4,35 Hz, 1,86 Hz), 8,36 (d, 1H, J = 8,40 Hz, 1,66 Hz), 8,20 (d, 1H, J = 1,78 Hz), 7,99 (d, 1H, J = 8,71 Hz), 7,76 (dd, 1H, J = 8,71 Hz, 1,87 Hz), 7,57 (dd, 1H, J = 8,09 Hz, 4,05 Hz), 5,58 (s, 1H), 3,75 - 3,55 (m, 4H), 1,17 (t, 6H, J= 7,16 Hz); C₁₆H₁₇NO₂ (MW 255,31), LCMS (EI) m/e 256,0 (M⁺ + H).



Ejemplo 16

6-(3,3-Dietoxipropil)quinolina (23)

Método A. Se añadió 3,3-dietoxi-1-propeno (548 g, 4,2 mol, 1,75 equiv.) en un matraz de 22 l cargado con una solución 0,5 M de 9-borabicyclo[3.3.1]nonano en tetrahidrofurano (solución de 9-BBN en THF, 8,4 l, 4,2 mol, 1,75 equiv.) a temperatura ambiente (la temperatura interna se elevó a 40 °C) durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Momento en el que la 1H RMN de una alícuota de la mezcla de reacción indicó que todo el 3,3-dietoxi-1-propeno se había consumido. Se añadieron 6-bromoquinolina (8, 500 g, 2,4 mol, 1,0 equiv.), carbonato potásico (K_2CO_3 , 662 g, 4,8 mol, 2,0 equiv.), triclorohexilfosfina (67,4 g, 0,24 mol, 0,1 equiv.), acetato de paladio ($Pd(OAc)_2$, 27 g, 0,12 mol, 0,05 equiv.) y agua (90 ml) a la mezcla de reacción en ese orden seguido de desgasificación con nitrógeno durante 0,5 h. Después, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. Una vez que el análisis por TLC y LC/MS mostró que el material de partida se había consumido, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente con agitación antes de inactivarse con agua (7,5 l) y acetato de etilo ($EtOAc$, 7,5 l). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo ($EtOAc$, 4 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de salmuera ($NaCl$, 4 l), se secaron sobre sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , 10 - 60 % de acetato de etilo en una solución de gradiente de heptano) para proporcionar 6-(3,3-dietoxipropil)quinolina (23, 520 g, 622,4 g teóricos, rendimiento del 83,5 %) en forma de un aceite incoloro. Para 23: 1H RMN ($DMSO-d_6$, 300MHz) δ ppm 8,81 (dd, 1H, J = 4,23 Hz, 1,73 Hz), 8,28 (d, 1H, J = 8,07 Hz), 7,91 (d, 1H, J = 8,62 Hz), 7,75 (s, 1H), 7,61 (dd, 1H, J = 8,63 Hz, 1,92 Hz), 7,46 (dd, 1H, J = 8,25 Hz, 4,22 Hz), 4,46 (t, 1H, J = 5,60 Hz), 3,61 - 3,38 (m, 4H), 2,79 (t, 2H, J = 8,53 Hz), 1,95 - 1,85 (m, 2H), 1,11 (t, 6H, J = 6,84 Hz); $C_{16}H_{21}NO_2$ (MW 259,34), LCMS (EI) m/e 260,2 ($M^+ + H$).

Método A - Alternativo. Se generó 9-BBN in situ y se usó para preparar el compuesto 23 que se describe como se indica a continuación: En una atmósfera de nitrógeno se cargó 1,2-dimetoxietano anhidro (DME, 47,0 ml) en un matraz de 3 bocas de 500 ml equipado con un aparato de destilación. Se añadió complejo de borano-sulfuro de dimetilo (12,1 g, 151 mmol, 2 equiv.) y la temperatura de la solución aumentó de 20 a 22 °C. A esta solución, se añadió gota a gota 1,5-ciclooctadieno (16,3 g, 151 mmol, 2 equiv.) durante un periodo de 30 min para mantener una temperatura de la reacción de 50 - 60 °C, momento durante el cual se recogió una pequeña cantidad de sulfuro de dimetilo por el aparato de destilación. Después, la mezcla de reacción se destiló en una atmósfera de nitrógeno hasta que la temperatura del destilado alcanzó 84 °C. Los destilados recogidos tenían un volumen de ~ 21 ml. El

baño de aceite se retiró y se añadió THF anhidro (49 ml). Se recogió una pequeña muestra de la mezcla de reacción para el análisis de ^1H RMN y el resultado indicó que la olefina se había consumido. Esta solución de 9-BBN se usó directamente en la siguiente etapa.

5 A la solución anterior de 9-BBN, se le añadió gota a gota 3,3-dietoxi-1-propeno (19,3 g, 142 mmol, 1,89 equiv.) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 30 °C. La reacción es ligeramente exotérmica y un precipitado de color blanco se disolvió lentamente. Después, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h.

10 A la solución preparada anteriormente se le añadieron 6-bromoquinolina (8, 15,7 g, 75,4 mmol, 1 equiv.), triciclohexilfosfina (1,27 g, 4,52 mmol, 0,06 equiv.), carbonato potásico (20,8 g, 151 mmol, 2 equiv.), y agua (0,421 ml, 23,4 mmol). La mezcla se desgasificó con burbujeo de nitrógeno durante 10 - 15 min. Se añadió acetato de paladio ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 0,508 g, 2,26 mmol, 0,03 equiv.) y el burbujeo de nitrógeno continuó durante 10 min más. La
15 mezcla de reacción se calentó a 75 °C y se mantuvo a 75 - 78 °C durante 2 - 3 h. Cuando el análisis por HPLC mostró la finalización de la reacción, el calentamiento se interrumpió y la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron acetato de etilo (EtOAc , 162 ml) y agua (H_2O , 162 ml) y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (EtOAc , 2 x 60 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, elución en gradiente de EtOAc al 0 - 40 % en hexano) para proporcionar 6-(3,3-dietoxipropil)quinolina (23, 17,6 g, 19,6 g teóricos, rendimiento del 90 %) en forma de un aceite transparente, que se
20 encontró como idéntico al material fabricado a partir del Método A en cada aspecto comparable.

Método B. Una mezcla de 6-(3,3-dietoxiprop-1-in-1-il)quinolina (22, 56 mg, 0,22 mmol) y paladio al 10 % sobre carbono (5 mg) en THF (5 ml) se hidrogenó en una atmósfera de H_2 a 1 atm durante 6 h. La mezcla de reacción se
25 filtró a través de un lecho de celite y el lecho de celite se lavó con THF (2 x 2 ml). Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida para proporcionar 6-(3,3-dietoxipropil)quinolina (23, 56 mg, 57 mg teóricos, rendimiento del 98 %) en forma de un aceite transparente, que se encontró que era suficientemente puro para usarse en la siguiente reacción sin purificación adicional, y era idéntico al material fabricado a partir del Método A en cada aspecto comparable.

30 Ejemplo 17

3-(Quinolin-6-il)propanal (9)

35 Método 1. Un matraz de 22 l se cargó con tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (70,0 g, 0,076 mol, 0,015 equiv.), tetrafluoroborato de tri-terc-butilfosfonio (44 g, 0,152 mol, 0,03 equiv.), y dioxano (12 l) a temperatura ambiente. Después, la solución resultante se desgasificó con una corriente estable de nitrógeno durante 20 min antes de
40 añadir 6-bromoquinolina (8, 1055 g, 5,07 mol, 1,0 equiv.), alcohol alílico (588 g, 10,1 mol, 2,0 equiv.), y N-metil-N-ciclohexilciclohexilamina (1186 g, 6,08 mol, 1,2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó de 50 - a 55 °C durante 8 -12 h. Cuando el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de añadir metil terc-butil éter (MTBE, 10 l) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min antes de filtrarse a
45 través de un lecho de celite. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , acetato de etilo al 20 - 80 % en elución en gradiente de heptano) para proporcionar 3-(quinolin-6-il)propanal (9, 495 g, 939,1 g teóricos, rendimiento del 52,7 %) en forma de un aceite de color amarillo, que solidificó parcialmente después de un periodo de reposo a 0 - 5 °C. Para 9: ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,75 (t, 1H, J = 1,24 Hz), 8,83 (dd, 1H, J = 4,15 Hz, 1,66 Hz), 8,25 (dd, 1H, J = 8,3, 1,03 Hz), 7,93 (d, 1H, J = 8,71 Hz), 7,76 (d, 1H, J = 1,45 Hz), 7,64 (dd, 1H, J = 8,72 Hz, 2,08 Hz), 7,48 (dd, 1H, J = 8,30 Hz, 4,36 Hz), 3,05 (t, 2H, J = 7,26 Hz), 2,89 (t, 2H, J = 7,26 Hz); $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}$ (MW 185,22), LCMS (EI) m/e 186 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

50 Método 2. Una solución de 6-(3,3-dietoxipropil)quinolina (23, Método A del Ejemplo 16, 520 g, 2,08 mol, 1,0 equiv.) en acetato de etilo (EtOAc , 2,2 l) se enfrió a 0 °C antes de añadir una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (HCl) (2,2 l) durante 1 h mientras se mantiene la temperatura de reacción por debajo de 5 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h más a 0 - 5 °C. Cuando el análisis por TLC y HPLC/MS indicó que la reacción se
55 había completado, la reacción se interrumpió con una solución acuosa enfriada con hielo 3 N de hidróxido sódico (NaOH) a 0 °C hasta que el pH estuvo entre 8 a 9. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (EtOAc , 2 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 l), se secaron con sulfato sódico (Na_2SO_4), y se concentraron a presión reducida para proporcionar 3-(quinolin-6-il)propanal en bruto (9, 385,3 g, 385,3 g teóricos, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color amarillo, que se encontró que era idéntico al material obtenido a partir del Método 1 en cada aspecto comparable. Dado que se encontró que este material en
60 bruto era suficientemente puro, se usó directamente en una reacción posterior sin purificación adicional.

Método 3. Un matraz de 22 l cargado con una solución 0,5 M de 9-borabicyclo[3.3.1]nonano en tetrahidrofuran (9-BBN, 5,75 l, 2,89 mol, 2,0 equiv.) y tetrahidrofuran (THF, 6 l) se trató con 3,3-dietoxi-1-propeno (393 g, 3,02 mol, 2,10 equiv.) a 0 - 5 °C y la mezcla de reacción resultante se calentó posteriormente a temperatura ambiente y se
65 agitó a temperatura ambiente durante 14 h. Se añadieron 6-bromoquinolina (8, 300 g, 1,44 mol, 1,0 equiv.), acetato

de paladio ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 16,1 g, 0,072 mol, 0,05 equiv.), carbonato potásico (K_2CO_3 , 398 g, 2,89 mol, 2,0 equiv.), triclorohexilfosfina (22,3 g, 0,079 mol, 0,055 equiv.), y agua (52 g, 2,8 mol) a la mezcla de reacción a temperatura ambiente antes de desgasificarse con nitrógeno durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a 75 °C durante 1 h. Cuando el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción se consideraba completa, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió agua (2 l) para disolver las sales. Después, la mezcla resultante se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 4 l antes de filtrarse a través de un lecho de Celite. El lecho de Celite se lavó con acetato de etilo (EtOAc , 2 l). El filtrado se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 2 l y esta solución residual se añadió entonces lentamente durante 5 min en un matraz que contenía una solución acuosa 2,0 M de ácido clorhídrico (HCl) (2 l) a 0 - 5 °C. La solución resultante se agitó a 0 - 5 °C durante 14 h antes de inactivarse con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (solución de NaHCO_3 a 0 °C hasta que el pH estuvo entre 8 a 9. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (EtOAc , 2 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (1 l), se secaron con sulfato sódico (Na_2SO_4), y se concentraron a presión reducida. El residuo, que contenía el 3-(quinolin-6-il)propanal en bruto (9) se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , acetato de etilo al 20 - 80 % en elución en gradiente de heptano) para proporcionar 3-(quinolin-6-il)propanal (9, 139 g, 266,7 g teóricos, rendimiento del 52,1 %) en forma de un aceite de color amarillo, que se encontró que era idéntico al material obtenido a partir de los Métodos 1 y 2.

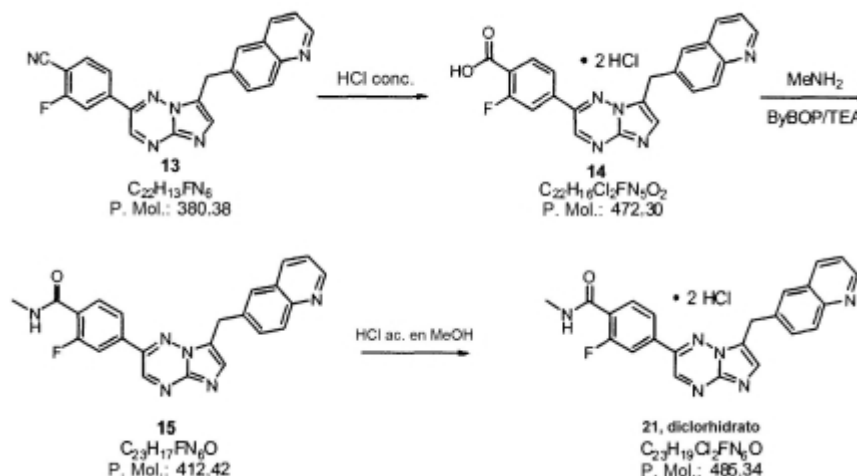
Ejemplo 18

1-(2-Cloro-1-hidroxi-3-(quinolin-6-il)propil)pirrolidin-2,5-diona (11)

Método I. Una solución de 3-(quinolin-6-il)propanal (9, 407 g, 2,2 mol, 1,0 equiv.) en cloroformo (CHCl_3 , 1700 ml) se enfrió a 0 °C antes de añadir prolina (52 g, 0,44 mol, 0,2 equiv.) y N-clorosuccinimida (NCS, 303 g, 2,31 mol, 1,05 equiv.). La mezcla de reacción resultante se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente (se volvió homogénea) y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción era exotérmica a aproximadamente 40 °C cuando alcanzó la temperatura ambiente y en este punto se había formado un precipitado. Una vez que el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (EtOAc , 1700 ml) y la mezcla resultante se enfrió a 0 °C. El sólido se recogió por filtración y la torta sólida húmeda recogida se puso en un matraz y se trituró con agua (750 ml). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min antes de recoger los sólidos por filtración. Los sólidos recogidos se lavaron con agua (250 ml) y metil terc-butil éter (MTBE, 500 ml) y se secaron en una estufa de vacío a 45 °C a un peso constante para proporcionar 1-(2-cloro-1-hidroxi-3-(quinolin-6-il)propil)pirrolidin-2,5-diona (11, 378,7 g, 701,3 g teóricos, rendimiento del 54 %) en forma de un polvo de color blanquecino. Para 11: $^1\text{HRMN}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz) δ ppm 8,86 (dd, 1H, J = 4,15 Hz, 1,66 Hz), 8,33 (dd, 1H, J = 8,51 Hz, 1,04 Hz), 7,98 (d, 1H, J = 8,72 Hz), 7,85 (d, 1H, J = 1,66 Hz), 7,68 (dd, 1H, J = 8,51 Hz, 1,87 Hz), 7,51 (dd, 1H, J = 8,29 Hz, 4,15 Hz), 7,36 (d, 1H, J = 7,05 Hz), 5,28 (dd, 1H, J = 9,54 Hz, 6,85 Hz), 5,07 (dt, 1H, J = 9,75 Hz, 2,70 Hz), 3,65 (dd, 1H, J = 14,52 Hz, 2,49 Hz), 3,09 (dd, 1H, J = 14,52 Hz, 9,75 Hz), 2,64 (s, 4H); $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_3$ (MW 318,75), LCMS (EI) m/e 319,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Método II. Una solución de 3-quinolin-6-ilpropanal (9, 74,8 g, 0,404 mol) en acetonitrilo (202 ml, 3,87 mol) se enfrió a 0 °C antes de añadir L-prolina (4,70 g, 0,0404 mol, 0,10 equiv.), ácido benzoico (4,96 g, 0,0404 mol, 0,10 equiv.), y N-clorosuccinimida (NCS, 57,8 g, 0,424 mol, 1,05 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h y la solución transparente resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se convirtió en una suspensión espesa y el análisis por LCMS mostró la finalización de la reacción. Se añadió acetato de etilo (EtOAc , 202 ml) a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con acetato de etilo (EtOAc , 100 ml) y se secaron al vacío a 40 - 45 °C a un peso constante para proporcionar 1-(2-cloro-1-hidroxi-3-(quinolin-6-il)propil)pirrolidin-2,5-diona (11, 88,8 g, 128,8 g teóricos, rendimiento del 69 %) en forma de un polvo blanquecino, que se encontró que era idéntico al material fabricado a partir del método I en cada aspecto comparable.

Esquema 3 (Ejemplos 19-21)



Ejemplo 19

5 Ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14)

Una suspensión de 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzonitrilo (13, 277,5 g, 0,73 mol, 1,0 equiv.) en ácido clorhídrico concentrado (2500 ml) y agua (250 ml) se calentó a 100 °C (homogénea en este punto) y se agitó a aproximadamente 100 °C durante 18 h. Cuando el análisis por LC/MS indicó que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió a 70 - 80 °C antes de diluirse con agua (2500 ml). La mezcla de reacción diluida resultante se enfrió entonces a temperatura ambiente (se formó un sólido de color amarillo a 40 - 50 °C) y posteriormente a 0 - 5 °C. Después, los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con una pequeña cantidad de HCl acuoso 1 N (100 ml), y se secaron en una estufa de vacío a 45 °C a un peso constante para proporcionar ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14, 271 g, 291,5 g teóricos, rendimiento del 93 %) en forma de polvos de color amarillo a amarillo brillante. Para 14: 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,34 (s, 1H), 9,23 (dd, 1H, J = 5,19 Hz, 1,45 Hz), 9,08 (d, 1H, J = 8,29 Hz), 8,38 (d, 1H, J = 8,92 Hz), 8,30 (d, 1H, J = 1,24 Hz), 8,18 (dd, 1H, J = 8,72 Hz, 1,87 Hz), 8,12 (s, 1H), 8,08 - 8,00 (m, 4H), 4,75 (s, 2H); $C_{22}H_{16}Cl_2FN_5O_2$ (MW 472,30), $C_{22}H_{14}FN_5O_2$ (base libre: MW 399,38), LCMS (EI) m/e 400,0 ($M^+ + H$).

Ejemplo 20

2-Fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15).

Una suspensión de ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14, 431,4 g, 0,914 mol, 1,0 equiv.) y hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyBOP, 570 g, 1,1 mol, 1,2 equiv.) en N,N-dimetilformamida (DMF, 3700 ml) se trató con una solución 2 M de metilamina en THF (1830 ml, 3,656 mol, 4,0 equiv.) durante 15 min a temperatura ambiente. La temperatura de reacción aumentó a 30 °C durante la adición de metilamina y la mezcla de reacción se volvió homogénea una vez que se completó la adición de metilamina. Después, a la mezcla de reacción se le añadió trietilamina (TEA, 382 ml, 2,742 mol, 3,0 equiv.) y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 - 4 h. Cuando el análisis por LC/MS mostró que la reacción de acoplamiento se consideró completa, la mezcla de reacción se trató con agua (950 ml). La suspensión resultante se enfrió a 0 - 5 °C en un baño de hielo y se agitó a 0 - 5 °C durante 30 min. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua (200 ml). Después, la torta sólida húmeda se suspendió en una mezcla de agua y acetonitrilo (1/1 en volumen, 2000 ml) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavó con agua y acetonitrilo, y se secó en una estufa de vacío a 40 - 45 °C a un peso constante para proporcionar 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15, 322 g, 377 g teóricos, rendimiento del 85,4 %) en forma de polvos de color amarillo a amarillo brillante. Para 15: 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,20 (s, 1H), 8,82 (dd, 1H, J = 4,05, 1,56 Hz), 8,38 (m a, 1H), 8,27 (dd, 1H, J = 8,50 Hz, 1,25 Hz), 8,06 - 7,93 (m, 5H), 7,81 - 7,74 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, J = 8,40 Hz, 4,35 Hz), 4,62 (s, 2H), 2,78 (d, 3H, J = 4,36 Hz); $C_{23}H_{17}FN_6O$ (MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 ($M^+ + H$).

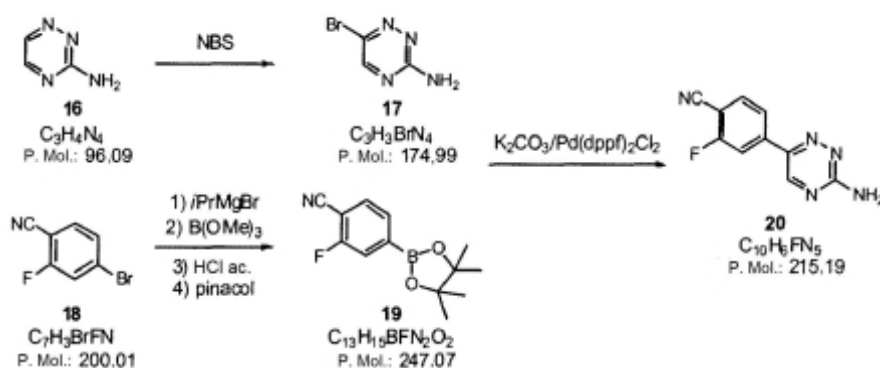
Ejemplo 21

Diclorhidrato de 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (21, diclorhidrato)

Una suspensión de 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15, 421,2 g, 1,021 mol) en metanol (MeOH, 6600 ml) se calentó a 55 °C antes de añadir gota a gota una solución premezclada de ácido clorhídrico acuoso concentrado (HCl, conc. 37 % en peso, 12 M, 420 ml, 5,10 mol, 5,0 equiv.) en alcohol

isopropílico (IPA, 1510 ml) a 55 °C. La solución transparente resultante se agitó a 55 °C durante 30 min antes de añadir metil terc-butil éter (MTBE, 6750 ml) a través de un embudo de adición durante 30 min. Los sólidos se eliminaron por precipitación lentamente después de la adición de metil terc-butil éter. La mezcla resultante se agitó a 55 °C durante 1 h más antes de enfriarse gradualmente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con metil terc-butil éter (MTBE, 3 x 500 ml), y se secaron en una estufa de vacío a 45 - 55 °C con respecto a un peso constante. El diclorhidrato de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida deseado (21, diclorhidrato, 470,7 g, 495,5 g teóricos, rendimiento del 95 %) se obtuvo en forma de sólidos cristalinos de color blanquecino a amarillo claro. Para 21 (diclorhidrato): p.f. (descomp.) 222 °C; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,46 (s, 1H), 9,25 (dd, 1H, J = 5,4 Hz, 1,4 Hz), 9,12 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 8,51 (m, 1H), 8,47 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 8,34 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 8,23 (s, 1H), 8,21 (dd, 1H, J = 9,0 Hz, 1,8 Hz), 8,09-8,02 (m, 3H), 7,79 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, 8,3 Hz), 4,77 (s, 2H), 2,78 (s, 3H, J = 4,5 Hz); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 163,4, 159,4 (d, J = 249,9 Hz), 145,8, 145,4, 144,5, 143,8, 140,4, 138,8, 136,8, 135,9, 135,7 (J = 8,6 Hz), 131,2 (J = 3,1 Hz), 130,7, 128,7, 128,2, 126,2 (J = 14,9 Hz), 126,0, 123,1 (J = 3 Hz), 122,5, 121,0, 114,9 (J = 5,6 Hz), 28,4, 26,3; ¹⁹F RMN (376,3 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -113,2; C₂₃H₁₇FN₆O (base libre, MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 (M⁺ + H) y 435,0 (M⁺ + Na).

Esquema 4 (Ejemplos 22-25)



Ejemplo 22

1,2,4-Triazin-3-amina (16)

Una solución acuosa de glioxal (57 kg de una solución acuosa al 40 % en peso, 393 mol, 0,73 equiv.) se añadió a una suspensión de bicarbonato de aminoguanidina (73 kg, 536,3 mol) en agua (400 l) a temperatura ambiente. El desprendimiento de dióxido de carbono (CO₂) comenzó casi inmediatamente. Después, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y el desprendimiento de gas se detuvo virtualmente después de aproximadamente 2 h. Después, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se evaporó a sequedad a presión reducida. Después, el residuo se extrajo con metanol frío (MeOH, 3 x 120 l), y la solución de metanol combinada se enfrió a 0 - 5 °C antes de filtrarse para retirar los sólidos residuales. Después, el filtrado se concentró a presión reducida, y el residuo se recrystalizó en acetonitrilo para proporcionar 1,2,4-triazin-3-amina (16, 34 kg, 37,76 kg teóricos, rendimiento del 90 %) en forma de agujas finas de color blanco. Para 16: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,54 (d, 1H, J = 2,33 Hz), 8,20 (d, 1H, J = 2,33 Hz), 7,15 (s a, 2H).

Ejemplo 23

6-Bromo-1,2,4-triazin-3-amina (17)

Una solución de 1,2,4-triazin-3-amina (16, 33 kg, 343,4 mol) en agua (500 l) y acetonitrilo (300 l) se trató con N-bromosuccinimida (NBS, 66 kg, 370 mol, 1,08 equiv.) a 5 - 15 °C, y la mezcla de reacción resultante se agitó a 10 - 15 °C durante 1 - 4 h. Cuando el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción de bromación se consideró completa, la mezcla de reacción se trató con una solución acuosa saturada de carbonato sódico (Na₂CO₃). Después, la solución resultante se extrajo con acetato de etilo (EtOAc, 3 x 500 l). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 100 l), se secaron sobre sulfato de magnesio (MgSO₄), y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6-bromo-1,2,4-triazin-3-amina (17, 10,3 kg, 60 kg teóricos, rendimiento del 17,2 %) en forma de polvos de color amarillo a pardo. Para 17: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,39 (s, 1H), 7,47 (a, 2H); C₃H₃BrN₄ (MW 174,99), LCMS (EI) m/e 175,0/176,9 (M⁺ + H).

Ejemplo 24

2-Fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzonitrilo (19)

Etapa 1. Una solución de 2-fluoro-4-bromobenzonitrilo (18, 12,5 kg, 62,5 mol) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 30 l) se trató con una solución de cloruro de isopropilmagnesio generada a partir de magnesio (Mg, 1,8 kg, 150 mol, 1,2 equiv.) y 2-cloropropano (7,2 kg, 92 mol, 1,47 equiv.) en THF (20 l) y 2-(2-(dimetilamino)etoxi)-N,N-dimetiletanamina (11 kg, 69 mol, 1,1 equiv.) a temperatura ambiente. Después, la mezcla resultante se agitó a 12 - 20 °C durante 2 h más antes de tratarse con trimetilborato (9 kg, 86,7 mol, 1,4 equiv.) a 10 - 15 °C. La mezcla de reacción se agitó a 7 -16 °C durante 40 min. Cuando el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se inactivó con ácido clorhídrico acuoso 1 N (HCl, 35 kg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción acuosa inactivada se extrajo entonces con acetato de etilo (EtOAc, 4 x 35 l). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (50 l), se secaron sobre sulfato de magnesio (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. Después, los sólidos residuales se recrystalizaron en acetonitrilo (20 l) y hexanos (45 l) para proporcionar el ácido 3-fluoro-4-cianofenil borónico en bruto correspondiente (5,0 kg, rendimiento del 48 %).

Etapa 2. Una suspensión del ácido 3-fluoro-4-cianofenil borónico en bruto (9,2 kg, 55,8 mol) en ciclohexano (150 l) se trató con pinacol (13,2 kg, 111,6 mol, 2,0 equiv.) a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción resultante se calentó a 40 °C durante 4 h. Cuando el análisis por TLC y LC/MS mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de lavarse con agua (2 x 75 l). Después, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio (MgSO₄) y se concentró a presión reducida para proporcionar 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzonitrilo (19, 11,8 kg, 13,8 kg teóricos, rendimiento del 85,6 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. Para 19: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,92 (t, 1H, J = 7,00 Hz), 7,62 (m, 2H), 1,29 (s, 12 H).

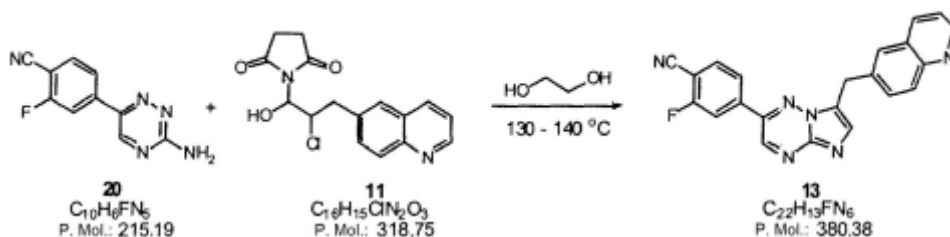
Ejemplo 25

4-(3-Amino-1,2,4-triazin-6-il)-2-fluorobenzonitrilo (20).

Una mezcla de 6-bromo-1,2,4-triazin-3-amina (17, 100,0 g, 571,47 mmol) y 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzonitrilo (19, 145,43 g, 588,61 mmol, 1,03 equiv.) en 1,4-dioxano (1200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 min antes de añadir carbonato potásico (K₂CO₃, 355,4 g, 2572 mmol) en agua (600 ml) para dar una solución de color rojo intensa. La mezcla se desgasificó por burbujeo con nitrógeno durante 10 min antes de añadir complejo de 1,1'-bis(difenil fosfino)ferroceno dicloropaladio (II) con diclorometano (1:1) (Pd(dppf)₂Cl₂, 14,14 g, 17,14 mmol, 0,03 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se desgasificó por burbujeo con nitrógeno durante 10 min y después se calentó a 86 °C en una atmósfera de nitrógeno.

Después de 2 h, el análisis por HPLC mostró que la reacción se consideró completa, y la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después a 0 - 5 °C con un baño de hielo-agua. Se añadió 1,4-dioxano (400 ml) a la mezcla de reacción enfriada antes de añadir gota a gota una solución acuosa 3,3 M de ácido clorhídrico (HCl, 1900 ml) con agitación para ajustar el pH a 0,40 - 0,93. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se filtró. El sólido recogido se agitó con 1,4-dioxano (260 ml) y después se añadió HCl 1 N (400 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y se filtró. El filtrado se combinó con el filtrado obtenido anteriormente y se lavó con acetato de etilo (EtOAc, 2 x 2 l). Los extractos de acetato de etilo combinados se extrajeron con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (HCl, 3 x 200 ml). Después, la solución acuosa combinada se trató con carbón activado (20 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se enfrió a 0 - 5 °C con un baño de hielo-agua. Se añadió gota a gota una solución al 50 % de hidróxido sódico en agua (NaOH, 240 ml, 4500 mmol) a 5-12 °C para ajustar el pH a 10,6 - 11,6. La mezcla se agitó a 0 - 5 °C durante 30 min y después se filtró. Los sólidos recogidos se lavaron con hidróxido de amonio acuoso (1 a 3 de NH₄OH concentrado al 28 % con respecto a agua, 1900 ml) y se secaron al vacío a 40 - 45 °C a peso constante para proporcionar 4-(3-amino-1,2,4-triazin-6-il)-2-fluorobenzonitrilo (20, 101,2 g, 122,9 g teóricos, rendimiento del 82,3 %) en forma de un polvo de color blanquecino. Para 20: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,94 (s, 1H), 8,12 (d, 1H, J = 11,41 Hz), 8,08 - 8,00 (m, 2 H), 7,71 (s a, 2 H); C₁₀H₆FN₅ (MW 215,19), LCMS (EI) m/e 215,9 (M⁺ + H).

Esquema 5 (Ejemplo 26)



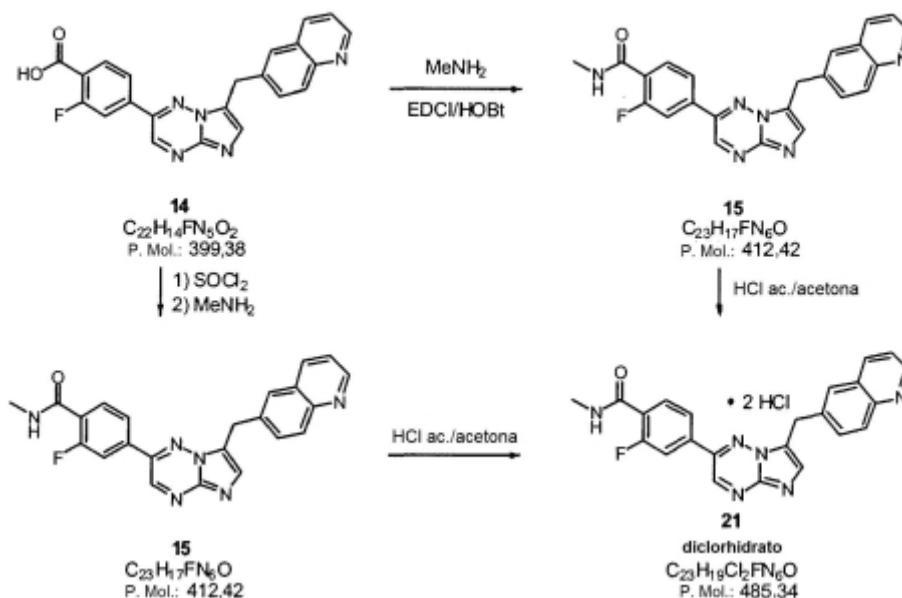
Ejemplo 26

2-Fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzonitrilo (13).

Etapa 1. Un reactor de 22 l equipado con un agitador de hélice, un termopar, un aparato de destilación, y una entrada de nitrógeno se purgó con nitrógeno antes de cargar 4-(3-amino-1,2,4-triazin-6-il)-2-fluorobenzonitrilo (20, 300 g, 1,39 mol), 1-(2-cloro-1-hidroxi-3-(quinolin-6-il)propil)pirrolidin-2,5-diona (11, 635 g, 1,99 mol, 1,43 equiv.), y etilenglicol (3,0 l) en el reactor a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se calentó a 130-140 °C con nitrógeno en burbujeo continuamente. El destilado se recogió con el aparato de destilación. Después de 3 - 4 h, el análisis por HPLC indicó que la reacción se consideró completa (presencia de <1,5 % de material de partida 20). La mezcla de reacción se enfrió gradualmente a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa al 2,5 % de carbonato sódico (Na_2CO_3 , 14,1 l) con agitación al reactor durante 60 min y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 - 2 h. Después, la mezcla se filtró, y el sólido se lavó con agua (9,6 l) y se secó al vacío para proporcionar el producto en bruto deseado (13, 980,4 g), que se combinó con varios lotes diferentes para la purificación como se describe a continuación.

Etapa 2. Una solución del producto en bruto (13, 2754 g) en cloruro de metileno (CH_2Cl_2 , 37,8 l) y metanol (0,54 l) se trató con gel de sílice (SiO_2 , 2700 g) a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con una mezcla de CH_2Cl_2 (18 l) y metanol (0,26 l). Los filtrados combinados se trataron con gel de sílice (SiO_2 , 1800 g) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 90 min y después se filtró. La torta de filtro se lavó con una mezcla de CH_2Cl_2 (18 l) y metanol (0,26 l). Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida a 20 - 60 °C a aproximadamente 8 - 12 l. El residuo se trató en porciones con una mezcla de isopropanol (IPA) y agua (1:1, 9 l) y la destilación se continuó a 1 atm de presión hasta que la temperatura alcanzó 68 - 75 °C. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y los sólidos se recogieron por filtración. Los sólidos recogidos se lavaron con isopropanol (IPA, 3,6 l) y se secaron al vacío a 40 - 45 °C a peso constante para proporcionar 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzonitrilo puro (13, 940,27 g) en forma de un polvo de color amarillo brillante. La reacción anterior y el proceso de purificación dieron el producto 13 con un rendimiento del 59 - 64 %. Los datos espectroscópicos del compuesto 13 hecho por este proceso sintético se encontraron como idénticos a los obtenidos a partir del material hecho por cianación del compuesto 12 descrito previamente. Para 13: ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,24 (s, 1H), 8,81 (dd, 1H, $J = 4,15, 1,66$ Hz), 8,26 - 8,12 (m, 4H), 8,02 (s, 1H), 7,95 - 7,93 (m, 2H), 7,76 (dd, 1H, $J = 8,71, 2,08$ Hz), 7,47 (dd, 1H, $J = 8,70, 4,15$ Hz), 4,62 (s, 2H); $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{FN}_6$ (MW 380,38), LCMS (EI) m/e 381,0 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Esquema 6 (Ejemplos 27-19)



Ejemplo 27

Ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14).

En un reactor de 22 l equipado con un agitador de hélice, un termopar, y una entrada de nitrógeno se cargó el compuesto 13 (900 g, 2,37 mol), agua (0,9 l), y HCl concentrado (9,1 l) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C durante 12 h. Cuando el análisis por HPLC mostró que la reacción se había completado, la mezcla de reacción se enfrió a 90 °C y se añadió agua (4,9 l) durante 15 min mientras se mantuvo la temperatura a 65 - 90 °C. La mezcla de reacción se enfrió adicionalmente a temperatura ambiente y se agitó a

temperatura ambiente durante 3 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (1,2 l) y se secaron al vacío a 40 - 45 °C a un peso constante para proporcionar ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14, 945 g, 946,5 g teóricos, rendimiento del 99,8 %) en forma de un sólido de color amarillo claro, que se encontró que era idéntico al material fabricado por el método anterior. Para 14: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,34 (s, 1H), 9,23 (dd, 1H, J = 5,19 Hz, 1,45 Hz), 9,08 (d, 1H, J = 8,29 Hz), 8,38 (d, 1H, J = 8,92 Hz), 8,30 (d, 1H, J = 1,24 Hz), 8,18 (dd, 1H, J = 8,72 Hz, 1,87 Hz), 8,12 (s, 1H), 8,08-8,00 (m, 4H), 4,75 (s, 2H); C₂₂H₁₆Cl₂FN₅O₂ (MW 472,30), C₂₂H₁₄FN₅O₂ (base libre: MW 399,38), LCMS (EI) m/e 400,0 (M⁺ + H).

Ejemplo 28

2-Fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15).

Método A. En una solución agitada de ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14, 1000 g, 2,12 mol) en acetonitrilo (5 l) y CH₂Cl₂ (10 l) se cargaron HOBt (358 g, 2,65 mol, 1,25 equiv.), y clorhidrato de EDC (508,4 g, 2,65 mol, 1,25 equiv.) a temperatura ambiente. Después, se añadió otra porción de CH₂Cl₂ (10 l) a la mezcla de reacción y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se añadió una solución 2,0 M de metilamina (MeNH₂) en THF (3,44 l, 6,88 mol, 3,25 equiv.) con agitación mientras se mantuvo la temperatura a 15 - 30 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h antes de añadir una porción adicional de una solución 2,0 M de metilamina (MeNH₂) en THF (1,06 l, 2,12 mol, 1 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se añadió una segunda porción de clorhidrato de EDC (406 g, 2,12 mol, 1 equiv.) y la agitación se continuó durante 6 h. Cuando el análisis por HPLC mostró que quedaba menos del 1 % de material de partida (14), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida a <50 °C. Durante la destilación se añadió acetonitrilo (20 l) y la destilación se continuó hasta que el volumen restante fue de aproximadamente 20 l. El residuo se trató con una solución acuosa al 2,5 % de carbonato sódico (Na₂CO₃, 40 l) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (3 x 4,0 l), se secaron al aire tirando vacío por el filtro para proporcionar el producto en bruto deseado (15). Los sólidos en bruto se trataron con CH₂Cl₂ (17,6 l) y MeOH (5,2 l) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó hasta obtener una solución transparente. La solución se filtró para retirar los materiales insolubles. Con agitación vigorosa, se añadió una solución acuosa al 2,5 % de carbonato sódico (Na₂CO₃, 17,6 l) al filtrado y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 60 min para dar una suspensión. Se añadió heptano (20 l) y la mezcla se agitó durante 60 min más. La mezcla se filtró y el sólido se lavó secuencialmente con agua (3 x 4,0 l) y heptano (4,0 l), y se secó al vacío para proporcionar 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15, 1095,3 g, 874,3 g teóricos) en forma de un sólido de color amarillo brillante, que se encontró que no estaba totalmente seco y contenía ~ 25 % de disolventes residuales. Este sólido húmedo se usó directamente para la reacción de formación de sal diclorhidrato posterior (21) sin secado adicional. Una pequeña muestra se secó completamente para análisis espectroscópicos y los datos eran coherentes con los obtenidos por el método anterior: Para 15: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,20 (s, 1H), 8,82 (dd, 1H, J = 4,05, 1,56 Hz), 8,38 (m a, 1H), 8,27 (dd, 1H, J = 8,50 Hz, 1,25 Hz), 8,06 - 7,93 (m, 5H), 7,81 - 7,74 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, J = 8,40 Hz, 4,35 Hz), 4,62 (s, 2H), 2,78 (d, 3H, J = 4,36 Hz); C₂₃H₁₇FN₆O (MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 (M⁺ + H).

Método B. A diclorhidrato de ácido 2-fluoro-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzoico (14, 50,00 g, 0,1059 mol) se le añadieron tolueno (300 ml) y seguido de cloruro de tionilo (SOCl₂, 77,2 ml, 1,06 mol, 10,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se calentó a 72 °C en una atmósfera de N₂ y la reacción se siguió de análisis por HPLC de la desaparición del ácido benzoico de material de partida (14). Después de 48 h, el análisis por HPLC indicó ~4 % de material de partida restante y la reacción se detuvo. La mezcla de reacción se concentró a sequedad por destilación al vacío a 40-50 °C. A los sólidos residuales se les añadió tolueno (300 ml) y el disolvente se retiró por destilación al vacío a 40-50 °C. Se añadió THF (250 ml) y la mezcla se enfrió con un baño de hielo-agua. Se añadió gota a gota metilamina 2,0 M (MeNH₂) en THF (529 ml, 1,06 mol, 10 equiv.). La mezcla de reacción resultante se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Se añadió agua (600 ml) a la mezcla de reacción y se retiró THF (400 - 500 ml) por destilación al vacío a 40 °C. Se añadió carbonato sódico (15,60 g, 0,147 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se filtró y el sólido se lavó con agua (3 x 30 ml) y se secó. El sólido se disolvió en cloruro de metileno premezclado (CH₂Cl₂, 1000 ml) y metanol (MeOH, 300 ml). Con agitación vigorosa, se añadió gota a gota una solución de 0,236 M de carbonato sódico (Na₂CO₃ en agua (1000 ml). El sólido se retiró por precipitación lentamente después de la adición de una solución acuosa de carbonato sódico (Na₂CO₃). Después, se añadió gota a gota hexano (1000 ml) con agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 - 40 min y los sólidos se recogieron por filtración. Los sólidos recogidos se lavaron con agua (3 x 200 ml) y se secaron al vacío a 40 - 50 °C a un peso constante para proporcionar 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15, 42,2 g, 43,67 g teóricos, rendimiento del 96,6 %) en forma de un sólido de color amarillo brillante, que se encontró que era idéntico al material fabricado por el Método A en cada aspecto comparable. Para 15: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,20 (s, 1H), 8,82 (dd, 1H, J = 4,05, 1,56 Hz), 8,38 (m a, 1H), 8,27 (dd, 1H, J = 8,50 Hz, 1,25 Hz), 8,06 - 7,93 (m, 5H), 7,81-7,74 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, J = 8,40 Hz, 4,35 Hz), 4,62 (s, 2H), 2,78 (d, 3H, J = 4,36 Hz); C₂₃H₁₇FN₆O (MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 (M⁺ + H).

Ejemplo 29

Diclorhidrato de 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (21, diclorhidrato)

- 5 2-Fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (15, 2100 g, que contenía ~25 % de disolventes residuales) y agua USP filtrada (7,6 l) se cargaron en un reactor de 50 l a temperatura ambiente. Con agitación, se añadió una solución acuosa 6 M de ácido clorhídrico (HCl, 3 l) con un embudo de adición. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió acetona (30,5 l) al reactor con agitación durante 1 h y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con acetona (2 x 4,3 l) y se secaron al vacío a un peso constante para proporcionar diclorhidrato de 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (21, diclorhidrato, 1629,2 g, 1830,6 g teóricos, rendimiento del 89 %) en forma de un polvo cristalino de color amarillento pálido, que se encontró que era idéntico al material fabricado por el método anterior en cada aspecto comparable.
- 10 Para 21 (diclorhidrato): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9,46 (s, 1H), 9,25 (dd, 1H, J = 5,4 Hz, 1,4 Hz), 9,12 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 8,51 (m, 1H), 8,47 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 8,34 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 8,23 (s, 1H), 8,21 (dd, 1H, J = 9,0, 1,8 Hz), 8,09 - 8,02 (m, 3H), 7,79 (dd, 1H, J = 7,5, 8,3 Hz), 4,77 (s, 2H), 2,78 (s, 3H, J = 4,5 Hz); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 163,4, 159,4 (d, J = 249,9 Hz), 145,8, 145,4, 144,5, 143,8, 140,4, 138,8, 136,8, 135,9, 135,7 (J = 8,6 Hz), 131,2 (J = 3,1 Hz), 130,7, 128,7, 128,2, 126,2 (J = 14,9 Hz), 126,0, 123,1 (J = 3 Hz), 122,5, 121,0, 114,9 (J = 5,6 Hz), 28,4, 26,3; ¹⁹F RMN (376,3 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -113,2; C₂₃H₁₇FN₆O (base libre, MW 412,42), LCMS (EI) m/e 413,1 (M⁺ + H) y 435,0 (M⁺ + Na).
- 15 20

Ejemplo 30

- 25 Características físicas de la sal diclorhidrato de 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (21)

La sal de ácido diclorhídrico es un polvo de color blanquecino a amarillo claro según se confirmó por inspección visual contra un fondo de color blanco.

Ejemplo 31

Estudio de solubilidad

- 35 Se encontró que la solubilidad del diclorhidrato (21, véase el Ejemplo 21) a 25 °C era aproximadamente de 4,9 mg/ml en agua; 0,002 mg/ml en tampón a pH 7,4; 0,002 mg/ml en tampón a pH 8,0; y aproximadamente 24 mg/ml en HCl acuoso 0,1 N. La solubilidad en equilibrio se determinó mezclando la muestra en los disolventes acuosos seleccionados (HCl 0,1 N, agua, tampón a pH 7,4, y tampón a pH 8,0) durante al menos 12 horas. Después, la concentración de muestra se determinó por HPLC usando una calibración de un único punto.

Ejemplo A

Ensayos de enzima cinasa c-Met in vitro

- 45 Se cribó 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida in vitro para determinar su capacidad para inhibir la actividad cinasa c-Met. El valor de CI₅₀ para la inhibición de cinasa c-Met se determinó como se describe en la bibliografía con algunas modificaciones (Wang, X. et al, Mol. Cancer Ther. 2003, 2(11):1085-1092; Calic, M. et al., Croatica Chemical ACTA. 2005, 78(3):367-374). En resumen, se utilizó la proteína de fusión del dominio catalítico de c-Met etiquetada con histidina (Invitrogen, # PV3143) para el ensayo. Las mediciones de CI₅₀ se basaron en el grado de fosforilación de poli Glu-Tyr (Sigma-Aldrich, # P0275) que se recubrió (0,01 mg/pocillo) en microplacas de 96 pocillos (R&D systems, # DY990). La reacción se realizó en una solución de 50 µl que contenía HEPES 50 mM (pH 7,5), MnCl₂ 10 mM, MgCl₂ 10 mM, DTT 0,5 mM, Na₃NO₄ 100 µM, ATP 5 µM (Cell Signaling Technology, # 9804) y diluciones seriadas del compuesto de ensayo. La reacción duró 25 minutos a 30 °C. Después de que la reacción se completase, el contenido de las placas se descartó. Después, las placas se lavaron con TBS-T (250 µl/pocillo, 5 x) y después se bloquearon con TBS-T que contenía BSA al 1 % durante 2 horas. El contenido de las placas se descartó, y después se añadieron 100 µl (por pocillo) de anticuerpo anti-fosfotirosina marcado con peroxidasa (Sigma, # A5964) diluido (1:60,000) en BSA al 1 % que contenía TBS-T y se incubó durante 1 hora. Las placas se lavaron con TBS-T (250 µl/pocillo, 5x) y seguido de la reacción de color usando 100 µl (mezcla 1:1) de H₂O₂ y tetrametilbenzidina (R&D Systems, # DY999). La reacción se detuvo en minutos con 100 µl de H₂SO₄ 2 N. La densidad óptica se midió inmediatamente usando un lector de microplacas a 450 nm con corrección de longitud de onda a 540 nm. Los valores de CI₅₀ se calcularon con el programa informático GraphPad Prism. El intervalo lineal (es decir, el período de tiempo durante el cual la tasa permaneció equivalente a la velocidad inicial) se determinó para la cinasa, y las determinaciones de CI₅₀ se realizaron dentro de este intervalo.
- 50 55 60

- 65 Wang, X., et al. Potent and selective inhibitors of the Met [hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) receptor] tyrosine kinase block HGF/SF-induced tumor cell growth and invasion. Mol. Cancer Ther. 2003, 2(11):1085-1092.

Calic, M., et al. Flavonoids as inhibitors of Lck and Fyn kinases. *Croatica Chemica ACTA*. 2005, 78(3):367-374.

Se encontró que 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazolo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida tenía un valor de CI_{50} menor de 500 nM. Véase, por ejemplo, documento U.S. N.º de Serie 11/942.130.

Ejemplo B

Ensayos de proliferación/supervivencia celular

Se pueden obtener líneas celulares que representan diversos cánceres humanos (SNU-1 y SUN-5 gástrico, A549 y NCI-H441 de pulmón, U-87 de glioblastoma, HT-29 de colon, 786-O de riñón, PC-3 pancreático) de la Colección Americana de Cultivos Tipo y se mantuvieron rutinariamente en medios de cultivo y condiciones recomendadas por la ATCC. La densidad celular óptima utilizada en el ensayo de proliferación/supervivencia puede determinarse para líneas celulares individuales. Los compuestos se examinan para determinar su capacidad para inhibir la proliferación/supervivencia celular, y se determinan los valores de CI_{50} . A continuación se presentan los protocolos de muestra para los ensayos de proliferación/supervivencia de células SNU-5 y SNU-1. Las células SNU-5 y SNU-1 se siembran en placas de cultivo celular de 96 pocillos a 4000 células/pocillo y 2000 células/pocillo respectivamente en medios apropiados que contenían FBS al 2 % y suplementadas con diluciones en serie de compuestos individuales en un volumen final de 100 μ l/pocillo. Después de 72 horas de incubación, se añaden 24 μ l de reactivo CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega, # G3581) a cada pocillo (concentración final = 333 μ g/ml), y las placas se incuban durante 2 horas más en una incubadora a 37 °C. La densidad óptica se mide en el intervalo lineal usando un lector de microplacas a 490 nm con corrección de longitud de onda a 650 nm. Los valores de CI_{50} se calculan con el programa informático GraphPad Prism. Para los ensayos de proliferación usando células A549, NCI-H441, U-87, HT-29, 786-O y PC-3, las células se privan por primera vez durante 48 horas en condición de suero bajo (FBS al 0,1-0,5 % en medio de cultivo apropiado), después se trataron con diferentes concentraciones de compuestos durante 2 horas. Después de tratar las células con HGF (50 ng/ml) (R&D, # 294-HGN) durante 24 horas, se añade el reactivo CellTiter 96® AQueous One Solution y las placas se incuban durante 2 horas. Los resultados se registran con un lector de placas.

Ejemplo C

Ensayos de fosforilación de c-Met basados en células

El efecto inhibitorio de los compuestos sobre la fosforilación de c-Met en líneas celulares relevantes (líneas celulares de cáncer SNU-5 gástrico, A549 y NCI-H441 de pulmón, U-87 de glioblastoma, HT-29 de colon, 786-O de riñón y PC-3 pancreático y línea celular HUVEC) puede evaluarse usando análisis de inmunotransferencia y ensayos de fosforilación de c-Met basados en ELISA. Las células se cultivan en medios de cultivo apropiados y se tratan con diversas concentraciones de compuestos individuales. Para las células SNU-5, HT-29, 786-O, las células se cultivan en medio apropiado suplementado con FBS al 0,2 % o el 2 % y se tratan con compuestos durante 3-4 horas. Los extractos de proteínas de células enteras se preparan usando reactivos y un protocolo (# FNN0011) obtenido de Biosource International con ligeras modificaciones. En resumen, los extractos proteicos se preparan mediante incubación en tampón de lisis con inhibidores de proteasa y fosfatasa [HEPES 50 mM (pH 7,5), NaCl 100 mM, $MgCl_2$ 1,5 mM, glicerol al 10 %, Triton X-100 al 1 %, ortovanadato sódico 1 mM, fluoruro sódico, aprotinina (2 μ g/ml), leupeptina (2 μ g/ml), pepstatina A (2 μ g/ml), y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (1 mM)] a 4 °C. Los extractos proteicos se eliminan de los desechos celulares por centrifugación a 14.000 x g durante 20 minutos. Para las células A549, H441, U-87 y PC-3, las células son suero (FBS al 0,2 %) privadas durante al menos 24 horas, después pretratadas con diversas concentraciones de compuestos durante 1 hora. Los extractos de células enteras se preparan después de que las células se tratasen con HGF (50 ng/ml) durante 10 minutos.

Análisis de inmunotransferencia

Los anticuerpos relevantes se obtienen a partir de fuentes comerciales: los anticuerpos policlonales de conejo incluían c-Met anti-humano (Santa Cruz Biotechnology, # sc-161) y c-Met anti-fosforilado (Biosource International, pY1230/4/5 y pY1003). Para la inmunotransferencia, se resuelven 10-20 μ g de extractos de proteína de condiciones de tratamiento individuales por electroforesis en gel SDS-PAGE al 10 %, y se electrotransfirieron a una membrana de nitrocelulosa (o PVDF). La membrana se bloquea en PBS que contenía leche al 3 % y Tween-20 al 0,1 % durante 1 hora, y después se incubaba con anticuerpos anti-c-Met primarios en solución de bloqueo durante 1 hora. Después de 3 lavados, la membrana se incubaba con anticuerpos secundarios con rábano picante apropiados durante 1 hora. Después del lavado final, la transferencia se incubaba con reactivo de detección por quimioluminiscencia durante 5 minutos y se expone a película de rayos X. Las imágenes se escanean, se cuantifican y se corrigen con c-Met total, y los valores de CI_{50} se calculan. Los compuestos que tienen una CI_{50} de 10 μ M o menos se consideran activos.

ELISA

Los extractos de proteína celular se analizan usando un kit ELISA de fosfo-c-Met humana de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems, #DYC2480). Las cantidades óptimas de extractos proteicos están

5 predeterminadas para líneas celulares individuales. En resumen, para el ensayo, se capturan cantidades apropiadas de extractos proteicos con un anticuerpo anti-c-Met humano de captura durante 2 horas en una microplaca de 96 pocillos. Después de los lavados, se añade un anticuerpo de detección (anticuerpo anti-fosfo-tirosina conjugado con HRP) y se incuba durante 2 horas. Después de lavados adicionales, se añaden 100 µl de una solución de sustrato (mezcla 1:1 de H₂O₂ y tetrametilbenzidina) en cada pocillo y la reacción se detiene con H₂SO₄ 2 N dentro de una cantidad apropiada de tiempo durante el desarrollo del color. La densidad óptica se mide en el intervalo lineal usando un lector de microplacas a 450 nm con corrección de longitud de onda a 540 nm. Los valores de CI₅₀ se calculan con el programa informático GraphPad Prism.

REIVINDICACIONES

1. Una sal que es la sal de ácido diclorhídrico de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, o un hidrato o solvato de la misma.

2. El hidrato de la reivindicación 1, que está caracterizado por un punto de fusión de 220 a 224 °C, preferiblemente 222 °C.

3. El hidrato de la reivindicación 2, que es cristalino.

4. El hidrato de la reivindicación 2 que tiene un termograma DSC que está caracterizado por un pico endotérmico a 222 °C, o un termograma DSC sustancialmente como se muestra en la figura 2, o un TGA sustancialmente como se muestra en la figura 3.

5. El hidrato de la reivindicación 2, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos característicos expresados en grados 2θ a 26,0, 24,7, 18,2, 29,3, y 7,8.

6. Una sal que es la sal de ácido dibencenosulfónico de 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida, o un hidrato o solvato de la misma.

7. La sal de la reivindicación 6, en la que dicha sal es anhidra.

8. La sal de la reivindicación 6, que está caracterizada por un punto de fusión de 268 a 272 °C, preferiblemente 270 °C.

9. La sal de la reivindicación 6, que es cristalina.

10. La sal de la reivindicación 9, que tiene un termograma DSC que está caracterizado por un pico endotérmico a 270 °C, o un termograma DSC sustancialmente como se muestra en la figura 5.

11. La sal de la reivindicación 6, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos característicos expresados en grados 2θ a 15,0, 16,3, 18,3, 20,2, 23,8, y 4,9.

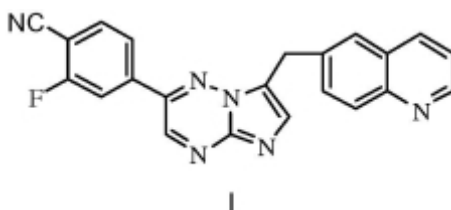
12. Una composición que comprende la sal, o un hidrato o solvato de la misma, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. La sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o un hidrato o solvato de la misma, para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con la regulación incorrecta de la ruta de señalización de HGF/c-MET, en la que dicha enfermedad es preferiblemente cáncer, aterosclerosis, fibrosis pulmonar, fibrosis y regeneración renal, enfermedad hepática, trastorno alérgico, enfermedad inflamatoria, trastorno autoinmune, enfermedad cerebrovascular, enfermedad cardiovascular, o afección asociada con trasplante de órganos, más preferiblemente cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer nasofaríngeo, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, osteosarcoma, sarcoma sinovial, rhabdomyosarcoma, MFH/fibrosarcoma, leiomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple, linfoma, leucemia de linfocitos T en adultos, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, glioblastoma, astrocitoma, melanoma, mesotelioma, o tumor de Wilm.

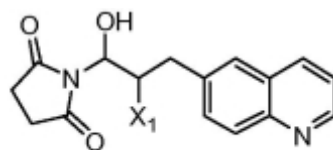
14. Un proceso para preparar el hidrato de la reivindicación 2, que comprende:

- hacer reaccionar una primera mezcla que comprende 2-fluoro-N-metil-4-[7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il]benzamida y agua con al menos dos equivalentes de ácido clorhídrico en un disolvente que comprende agua para formar una segunda mezcla; y
- combinar la segunda mezcla con metil terc-butil éter.

15. Un proceso para preparar un compuesto de Fórmula I:



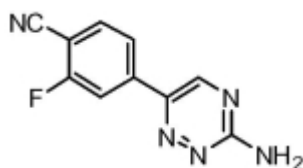
o una sal del mismo;
que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:



II

5

con un compuesto de Fórmula III:

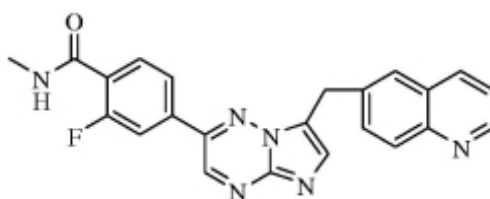


III

10

para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo;
en la que X₁ es cloro, bromo o yodo.

16. Un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula V y sales del mismo



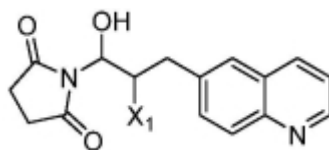
V

15

que comprende

(a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II:

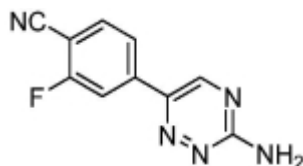
20



II

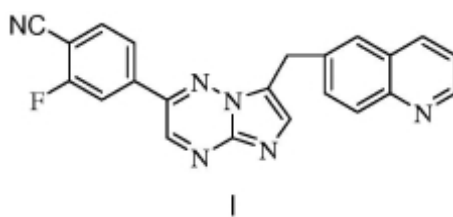
en la que X₁ es cloro, bromo o yodo,
con un compuesto de Fórmula III:

25

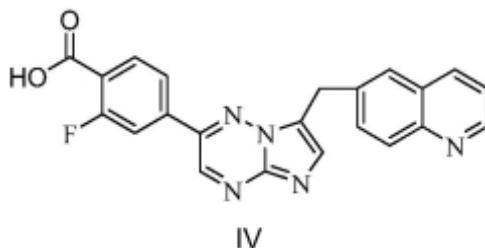


III

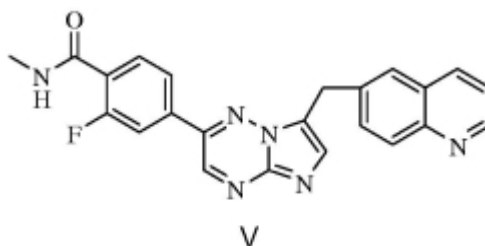
para formar un compuesto de Fórmula I, o sal del mismo; y



(b) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula I, o sal del mismo, con ácido clorhídrico concentrado para formar un compuesto de Fórmula IV o sal del mismo; y

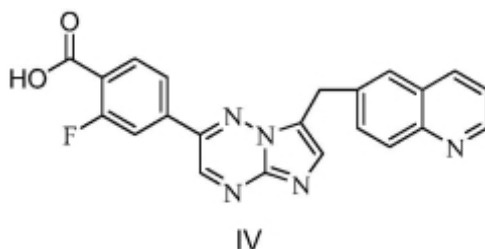


(c) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV, o sal del mismo, con CH_3NH_2 en presencia de al menos un agente de acoplamiento para formar un compuesto de Fórmula V:

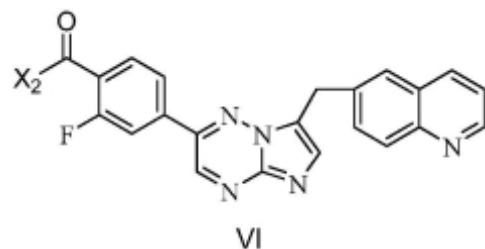


o sal del mismo, en la que dicho agente de acoplamiento se selecciona entre 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N-hidroxibenzotriazol, hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxil)tripirrolidinofosfonio, y sales de los mismos, o

(d)(i) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV o sal del mismo,



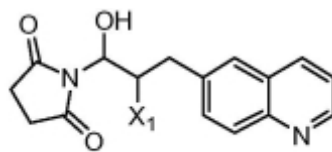
con un agente de halogenación, para formar un compuesto de Fórmula VI o sal del mismo;



en la que X_2 es halógeno y dicho agente de halogenación es preferiblemente cloruro de tionilo; y

(d)(ii) hacer reaccionar dicho compuesto de Fórmula VI, o sal del mismo, con CH_3NH_2 para formar un compuesto de Fórmula V o sal del mismo.

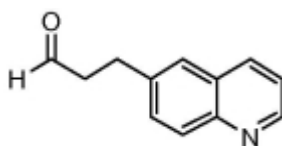
17. El proceso de la reivindicación 15 o la reivindicación 16, que comprende además preparar el compuesto de Fórmula II:



II

5

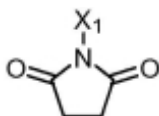
mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIa:



IIa

10

con un compuesto de Fórmula IIb:

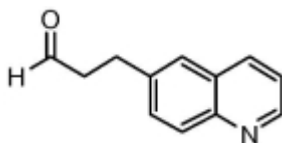


IIb

15

durante un tiempo adecuado para preparar un compuesto de Fórmula II, en la que X_1 es cloro, bromo o yodo, preferiblemente en presencia de prolina, en el que el proceso preferiblemente comprende además las etapas de:

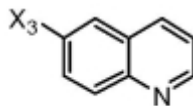
preparar el compuesto de Fórmula IIa:



IIa

20

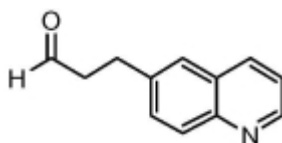
mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIc:



IIc

25

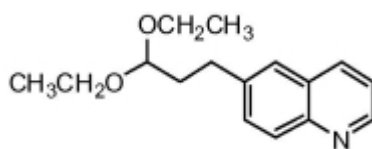
con prop-2-en-1-ol en presencia de un catalizador de paladio y una base; en la que X_3 es cloro, bromo o yodo, o preparar el compuesto de Fórmula IIa:



IIa

30

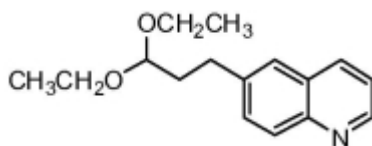
mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IId:



IIId

con un ácido de fórmula HX' ; en la que X' es cloro, bromo o yodo.

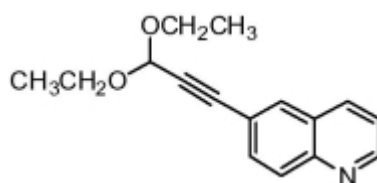
- 5 18. Un proceso de la reivindicación 17, que comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIId:



IIId

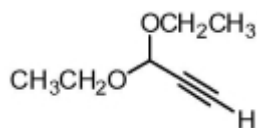
mediante un proceso que comprende reducir un compuesto de Fórmula IIe:

10



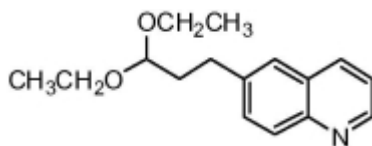
IIe

- 15 con gas hidrógeno en presencia de paladio sobre carbono, en la que dicho proceso preferiblemente comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIe mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIc con un compuesto de Fórmula IIf:



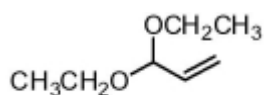
IIIf

- 20 en presencia de acetato de paladio y CuI y una base; o preferiblemente comprende además preparar un compuesto de Fórmula IIId:



IIId

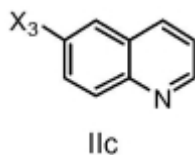
- 25 mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIg:



IIIf

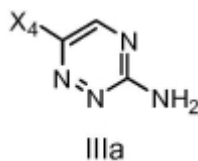
con 9-borabicyclo[3.3.1]nonano, seguido de la reacción con un compuesto de Fórmula IIc:

30

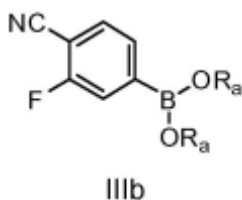


en presencia de diacetato de paladio (II) para formar el compuesto de Fórmula IId; en la que X_3 es cloro, bromo o yodo.

19. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, que comprende además preparar el compuesto de Fórmula III mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIIa:



con un compuesto de Fórmula IIIb:

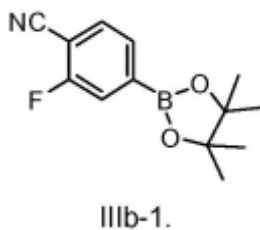


en presencia de un catalizador de paladio y una base; en la que:

X_4 es cloro, bromo o yodo; y

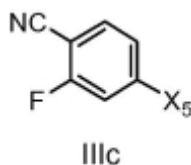
cada R_a es, independientemente, alquilo C_{1-6} ; o

cada R_a , junto con los dos átomos de oxígeno y átomo de boro forman un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros; en la que dicho anillo heterocíclico está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3 o 4 grupos alquilo C_{1-4} independientemente seleccionados, preferiblemente en el que el compuesto de Fórmula IIIb tiene la fórmula IIIb-1:

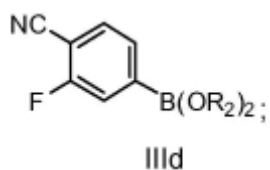


comprendiendo dicho proceso incluso más preferiblemente además preparar el compuesto de Fórmula IIIb-1 mediante un proceso que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIIc:



un reactivo de fórmula R_1MgY , seguido de la reacción con un compuesto de fórmula $B(OR_2)_3$ para formar un compuesto de Fórmula IIId:



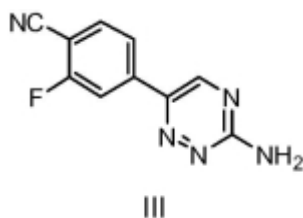
- 5 y
b) después de la reacción en la etapa a), hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IIIId con un ácido, seguido de la reacción con pinacol para formar el compuesto de Fórmula IIId-1;

en la que:

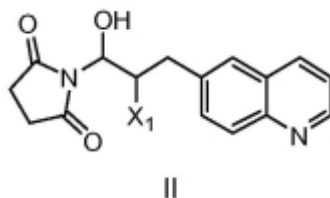
- 10 R_1 es alquilo C_{1-6} ;
cada R_2 es, independientemente, alquilo C_{1-6} ; y
 X_5 es cloro, bromo o yodo.

- 15 20. El proceso de la reivindicación 19, que comprende además preparar el compuesto de Fórmula IIIa haciendo reaccionar 1,2,4-triazina-3-amina con un agente de halogenación.

21. Un compuesto de Fórmula III:



- 20 o sal del mismo, o
un compuesto de Fórmula II:



- 25 en la que X_1 es cloro, yodo o bromo.

FIGURA 1

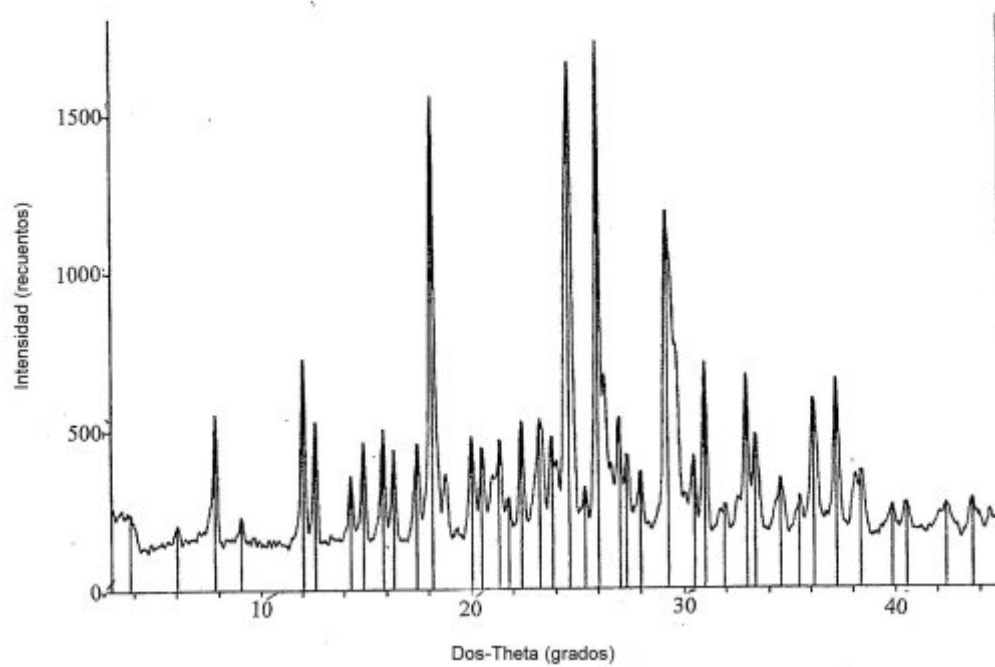


FIGURA 2

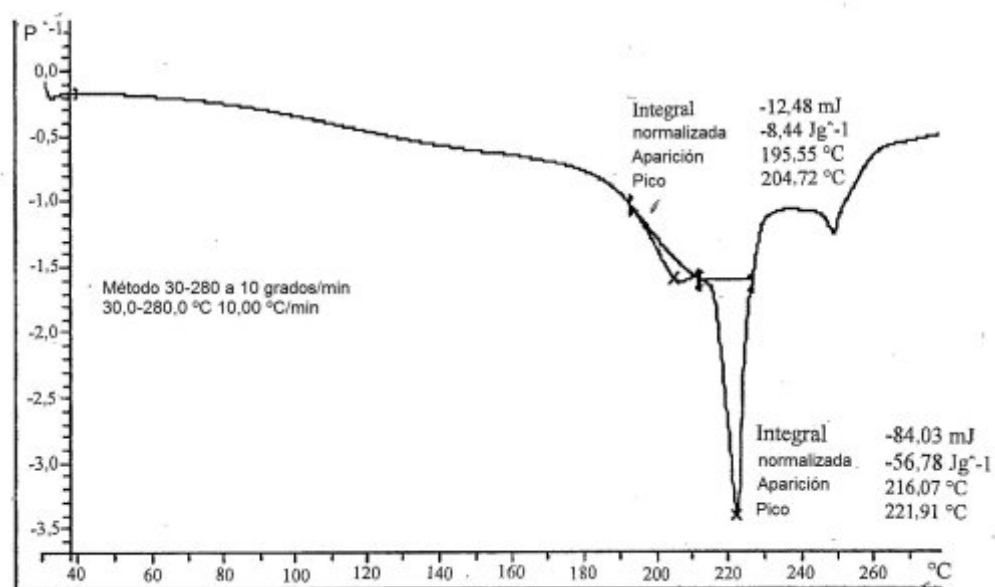


FIGURA 3

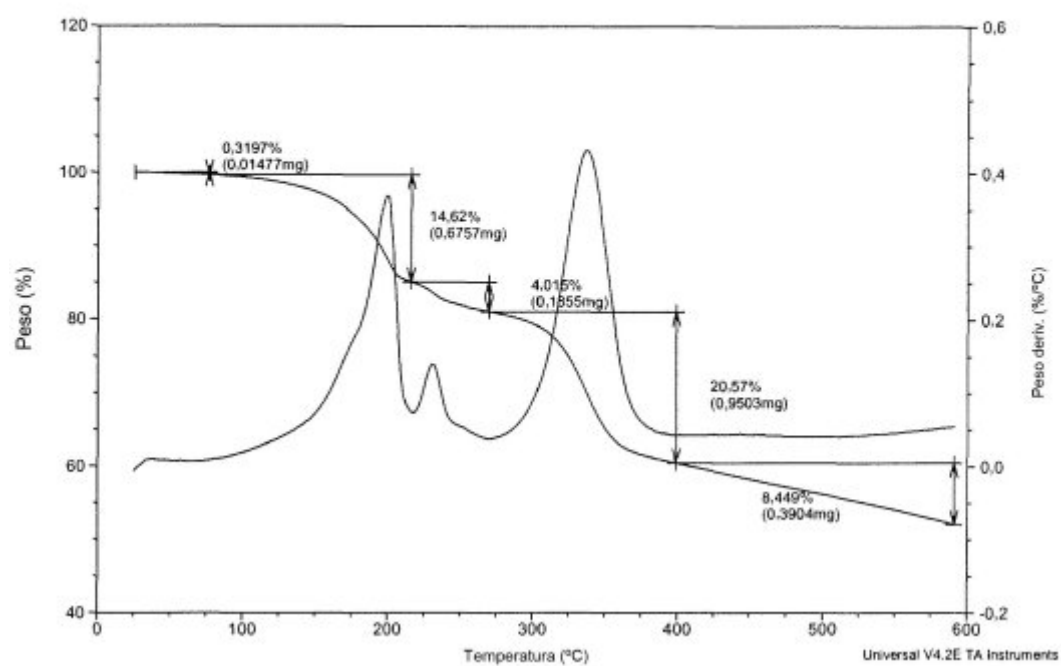


FIGURA 4

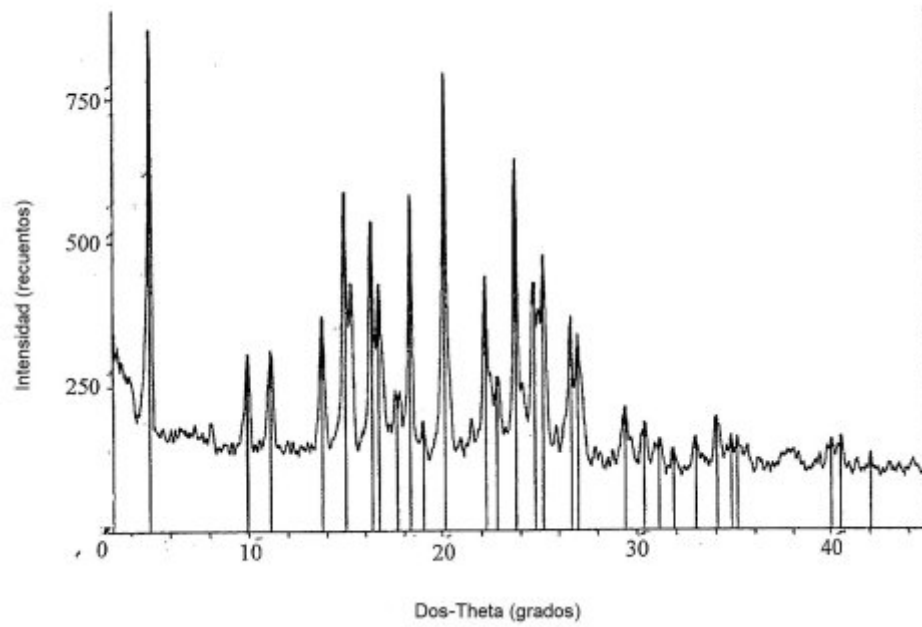


FIGURA 5

