

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 750**

51 Int. Cl.:

C07D 239/70 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2012** **PCT/US2012/031665**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012** **WO12135750**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012** **E 12765234 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017** **EP 2694485**

54 Título: **Combinación de compuesto inhibidor de AKT y vemurafenib para su uso en tratamientos terapéuticos**

30 Prioridad:

01.04.2011 US 201161470803 P
01.04.2011 US 201161470624 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.03.2018

73 Titular/es:

GENENTECH, INC. (100.0%)
One DNA Way
South San Francisco, CA 94080-4990, US

72 Inventor/es:

HOEFLICH, KLAUS y
MERCHANT, MARK

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 657 750 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

Combinación de compuesto inhibidor de AKT y vemurafenib para su uso en tratamientos terapéuticos

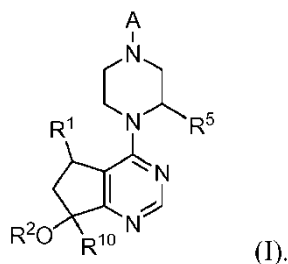
5 **Campo de la invención**

La invención se refiere generalmente a combinaciones farmacéuticas de compuestos con actividad contra trastornos hiperproliferativos tales como cáncer y que incluyen compuestos que inhiben la actividad de AKT cinasa. La invención también se refiere a las combinaciones para su uso en diagnóstico *in vitro*, *in situ* e *in vivo* o tratamiento de células de mamífero, o afecciones patológicas asociadas.

Antecedentes de la invención

Las proteínas cinasas (PK) son enzimas que catalizan la fosforilación de grupos hidroxilo en restos de tirosina, serina y treonina de proteínas por transferencia del fosfato terminal (gamma) de ATP. Mediante las vías de transducción de señales, estas enzimas modulan el crecimiento, diferenciación y proliferación celular, es decir, prácticamente todos los aspectos de la vida de la célula que de una forma u otra dependen de la actividad de PK (Hardie, G. y Hanks, S. (1995) The Protein Kinase Facts Book. I and II, Academic Press, San Diego, CA). Además, la actividad de PK anormal ha sido relacionada con multitud de trastornos, que oscilan de enfermedades relativamente no potencialmente mortales tales como psoriasis a enfermedades extremadamente virulentas tales como glioblastoma (cáncer cerebral). Las proteínas cinasas son una clase diana importante para la modulación terapéutica (Cohen, P. (2002) Nature Rev. Drug Discovery 1:309).

Las publicaciones de solicitud de patente internacional Números WO 2008/006040 y US 2008/0051399 tratan una serie de inhibidores de AKT de fórmula I:



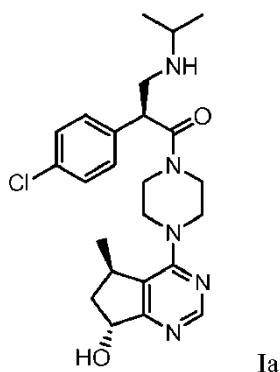
Wellbrock y Hurlstone (Biochemical Pharmacology 80 (2010) 561-567) describen el posible direccionamiento de BRAF, un miembro de la familia RAF cinasa, como diana terapéutica en el tratamiento de melanoma. También se trata la plausibilidad de algunas terapias dirigidas combinadas.

Actualmente, sigue existiendo una necesidad de métodos y composiciones mejorados que puedan usarse para tratar enfermedades hiperproliferativas tales como cáncer.

Sumario de la invención

Se ha determinado que pueden lograrse efectos aditivos o sinérgicos en la inhibición del crecimiento de células cancerosas *in vitro* e *in vivo* administrando un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con ciertos otros agentes quimioterapéuticos específicos. Las combinaciones y métodos pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos hiperproliferativos tales como cáncer.

Un aspecto de la invención proporciona un compuesto de fórmula Ia:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico de melanoma metastásico o no extirpable.

5 El compuesto de fórmula Ia o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo y vemurafenib pueden ser co-formulados para administración en una combinación como composición farmacéutica o pueden administrarse por separado en alternancia (secuencialmente) como combinación terapéutica.

10 También se describe un kit que comprende un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un recipiente y un prospecto o etiqueta que indica la administración del compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico de melanoma metastásico o no extirpable.

15 Un aspecto de la invención proporciona un producto que comprende un compuesto que tiene fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y vemurafenib; como preparación combinada para uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento terapéutico de melanoma metastásico o no extirpable.

20 Un aspecto de la invención proporciona GDC-0068 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico de melanoma metastásico o no extirpable.

Un aspecto de la invención proporciona GDC-0068 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de melanoma metastásico o no extirpable que comprende una mutación V600E de BRAF.

25 Un aspecto de la invención proporciona a) GDC-0068 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en combinación con b) vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de melanoma metastásico resistente al agente individual vemurafenib en un mamífero.

30 Además de proporcionar tratamiento mejorado para un trastorno hiperproliferativo dado, la administración de ciertas combinaciones de la invención puede mejorar la calidad de vida de un paciente en comparación con la calidad de vida experimentada por el mismo paciente que recibe un tratamiento diferente. Por ejemplo, la administración de una combinación de un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un agente quimioterapéutico de vemurafenib como se describe en el presente documento, a un paciente puede proporcionar una calidad de vida mejorada en comparación con la calidad de vida que el mismo paciente experimentaría si recibiera solo el agente quimioterapéutico como terapia. Por ejemplo, la terapia combinada con la combinación descrita en el presente documento puede reducir la dosis de agentes quimioterapéuticos necesarios, disminuyendo así los efectos secundarios asociados a agentes quimioterapéuticos de alta dosis (por ejemplo, náuseas, vómitos, pérdida de cabello, urticaria, reducción del apetito, pérdida de peso, etc.). La combinación también puede producir carga tumoral reducida y los acontecimientos adversos asociados, tales como dolor, disfunción orgánica, pérdida de peso, etc. En otro ejemplo, la combinación también puede ser eficaz para tratar la enfermedad después de que se haya vuelto resistente a uno de los agentes solo (por ejemplo, cánceres resistentes a vemurafenib, tales como melanoma metastásico, pueden ser tratados por combinaciones de vemurafenib y un compuesto de fórmula Ia o una sal del mismo).

45 Por consiguiente, un aspecto de la invención proporciona un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso terapéutico para mejorar la calidad de vida de un paciente tratado para melanoma metastásico o no extirpable con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Breve descripción de los dibujos

50 La Figura 1 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores de próstata primarios LuCap35V.
La Figura 2 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado intermitentemente ya sea PO o IP y docetaxel en tumores de próstata PC3-NCI.
55 La Figura 3 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y docetaxel en tumores de próstata PC3-NCI.
La Figura 4 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado IP intermitentemente y docetaxel en tumores MCF7-neo/HER2.
La Figura 5 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y docetaxel en tumores de mama MCF7-neo/HER2.
60 La Figura 6 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores mamarios MAXF401.
La Figura 7 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores de ovario SKOV3.
65 La Figura 8 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y cisplatino en tumores de ovario SKOV3.
La Figura 9 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y carboplatino

en tumores de ovario IGROV-1.

La Figura 10 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 2,5 mg/kg.

La Figura 11 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 5,0 mg/kg.

La Figura 12 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 7,5 mg/kg.

La Figura 13 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y MDV3100 en células LuCap35V.

La Figura 14 ilustra los resultados de la combinación de GDC-0068 (Ejemplo 2) y B20 (avastina murina) en un modelo de cáncer de mama triple positivo (PRC) Fo5 HER2, con aditividad observada a 50 y 100 mg/kg de GDC-0068.

La Figura 15 ilustra los resultados del Ejemplo 15 para el compuesto del Ejemplo 2 y Tarceva en células NCI-H2122 (mutante Kras), en el que se observó un efecto aditivo, pero 100 mg/kg del Ejemplo 2 combinados con erlotinib no fueron bien tolerados.

La Figura 16 ilustra los datos del Ejemplo 14 que muestran que combinaciones representativas proporcionan actividad aditiva o sinérgica contra varios tipos de cáncer.

La Figura 17 ilustra los datos del Ejemplo 14 que muestran que la actividad del Ejemplo 2 más 5-FU/cisplatino está asociada a la activación de la vía de AKT, particularmente en carcinoma gástrico y de células escamosas de cabeza y cuello. Se observaron efectos aditivos para la combinación de GDC-0068 más 5-FU/cisplatino, y están asociados con la mutación y amplificación de PTEN (bajo o nulo), pAKT (expresión en exceso) y PI3K.

La Figura 18 ilustra los datos de puntuación de BLISS del Ejemplo 14 que muestran la actividad del Ejemplo 2 (GDC-0068) más combinaciones de 5-FU/cisplatino ("quimio") en líneas celulares gástricas. Se demuestra sinergia en la combinación en líneas celulares NUGC3 (cáncer gástrico) donde el estado de PTEN es bajo y pAKT se expresa en exceso. Adicionalmente, esta línea celular particular (NUGC3) muestra efectos aditivos a dosis de nivel medio de 5-Fu/cisplatino y dosis alta de GDC-0068.

La Figura 19 ilustra los datos del Ejemplo 14 que muestran que el Ejemplo 2 más combinaciones de docetaxel muestran la máxima sinergia en la línea nula PTEN que tuvieron respuesta mínima del agente individual al Ejemplo 2.

La Figura 20 ilustra los datos del Ejemplo 14 que muestran que el Ejemplo 2 más combinaciones de docetaxel muestran aditividad más débil y sinergia en líneas celulares normales de PTEN.

La Figura 21 ilustra los resultados de un xenoinjerto *in vivo* para estudiar, según el Ejemplo 15, usando un compuesto de fórmula Ia (GDC-0068) en combinación con un inhibidor de BRAF (vemurafenib), dosificado PO, en tumores de melanoma A2058.

La Figura 22 ilustra las CE_{50} *in vitro* para el agente individual GDC-0068 y vemurafenib en líneas celulares A375 de melanoma (Fig 22A) y líneas celulares A375 de melanoma resistentes a vemurafenib (Fig 22B), respectivamente.

La Figura 23 ilustra las CE_{50} *in vitro* para la combinación de GDC-0068 y vemurafenib en líneas celulares A375 de melanoma (Fig 23A) y líneas celulares A375 de melanoma resistentes a vemurafenib (Fig 23B), respectivamente.

La Figura 24 ilustra la muerte celular absoluta en los momentos de tiempo 24 y 48 h con respecto a DMSO en líneas celulares Colo800 de mutantes V600E de BRAF para GDC-0068 y terapia con agente individual de vemurafenib en comparación con la combinación sinérgica de GDC-0068 más vemurafenib en una línea celular de melanoma humana Colo800.

La Figura 25 ilustra las veces de aumento en la muerte celular con respecto a DMSO con combinaciones de GDC-0068 más vemurafenib en la línea de células de melanoma A375 (Fig 25A) y la línea celular resistente a vemurafenib (Fig 25B). Esta figura demuestra cómo la combinación de GDC-0068 y vemurafenib actúa sinérgicamente para tratar pacientes que llegan a ser resistentes a la terapia con agente individual de vemurafenib.

La Figura 26 ilustra el aumento de sensibilidad de los clones de la línea celular de melanoma A375 resistentes a vemurafenib con respecto a una línea celular parental (círculo rojo) como se mide por el porcentaje de inhibición a la combinación de GDC-0068 más vemurafenib. Esta figura demuestra cómo la combinación de GDC-0068 y vemurafenib actúa sinérgicamente para tratar pacientes que llegan a ser resistentes a la terapia con el agente individual vemurafenib.

Descripción detallada de realizaciones a modo de ejemplo y definiciones

Las palabras "comprenden", "que comprende", "incluyen", "que incluye" e "incluye", cuando se usan en esta memoria descriptiva y reivindicaciones, pretenden especificar la presencia de características, números enteros, componentes, o etapas, establecidos, pero no descartan la presencia o adición de una o varias de otras características, números enteros, componentes, etapas, o grupos de los mismos.

Los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a tanto tratamiento terapéutico y profiláctico como a medidas preventivas, en los que el objeto es prevenir o ralentizar (reducir) un cambio fisiológico no deseado o trastorno, tal como el crecimiento, desarrollo o diseminación del cáncer. Para los fines de la presente invención, resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de síntomas, reducción del grado enfermedad, estado de enfermedad estabilizado (es decir, que no empeora), retraso o ralentizamiento de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de enfermedad, y remisión (ya sea parcial o total), tanto detectable como indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia

esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos ya con la afección o trastorno, además de aquellos propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que la afección o trastorno va a prevenirse.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que, solo en un ejemplo, o en combinación con un segundo agente quimioterapéutico en otro ejemplo, (i) trata la enfermedad particular, afección o trastorno, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad particular, afección o trastorno, o (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad particular, afección o trastorno descritos en el presente documento. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco, sola o en combinación, puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar de algún modo y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar de algún modo y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, de algún modo, el crecimiento tumoral; y/o aliviar de algún modo uno o más de los síntomas asociados al cáncer. Hasta el punto que el fármaco, solo o en combinación, puede prevenir el crecimiento y/o destrucción de células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia del cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, evaluando el tiempo hasta la progresión de la enfermedad (TTP) y/o determinando la tasa de respuesta (RR).

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la afección fisiológica en mamíferos que normalmente se caracteriza por crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas. Ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o tumores malignos linfoides. Más ejemplos particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas ("NSCLC"), adenocarcinoma de pulmón y carcinoma de pulmón escamoso, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago que incluye cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, además de cáncer de cabeza y cuello. Cáncer gástrico, como se usa en el presente documento, incluye cáncer de estómago, que puede desarrollarse en cualquier parte del estómago y puede diseminarse a través del estómago y a otros órganos; particularmente el esófago, pulmones, ganglios linfáticos y el hígado. Adicionalmente, ejemplos de cánceres conducidos por la mutación V600E de BRAF incluyen linfoma no Hodgkin, cáncer colorrectal, melanoma metastásico, carcinoma tiroideo papilar, carcinoma de pulmón de células no pequeñas y adenocarcinoma de pulmón. Un ejemplo particular de cánceres conducidos por la mutación V600E de BRAF es melanoma metastásico o no extirpable.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto biológico (molécula grande) o químico (molécula pequeña) útil en el tratamiento del cáncer, independientemente del mecanismo de acción. Las clases de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a: agentes alquilantes, antimetabolitos, alcaloides de plantas de venenos del huso, antibióticos citotóxicos/antitumorales, inhibidores de la topoisomerasa, proteínas, anticuerpos, fotosensibilizadores e inhibidores de cinasas. Agentes quimioterapéuticos incluyen compuestos usados en "terapia dirigida" y quimioterapia convencional no dirigida.

El término "mamífero" incluye, pero no se limita a, seres humanos, ratones, ratas, cobayas, monos, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, ovejas y aves de corral. El término paciente se refiere a un mamífero, y en una realización, el paciente es un ser humano.

El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones y/o advertencias referentes al uso de tales productos terapéuticos.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la invención. Sales a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, ácido citrato, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato "mesilato", etanosulfonato, benenosulfonato, *p*-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula tal como un ión acetato, un ión succinato u otro contraión. El contraión puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que estabilice la carga en el compuesto parental. Además, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Los casos donde múltiples átomos cargados sean parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener múltiples contraiones. Por lo tanto, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

Si el compuesto es una base, la sal farmacéuticamente aceptable deseada puede prepararse por cualquier método adecuado disponible en la materia, por ejemplo, tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido

clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido metanosulfónico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, un ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxiácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido p-toluenosulfónico o ácido etanosulfónico, o similares. Ácidos que generalmente son considerados adecuados para la formación de sales farmacéuticamente útiles o aceptables de compuestos farmacéuticos básicos se tratan, por ejemplo, por P. Stahl et al, Camille G. (eds.) *Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.* (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1 19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201 217; Anderson et al, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York; Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18ª ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton PA; and in *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. en su página web). Si el compuesto es un ácido, la sal farmacéuticamente aceptable deseada puede prepararse por cualquier método adecuado, por ejemplo, tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u orgánica, tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo, o similares. Ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales orgánicas derivadas de aminoácidos, tales como glicina y arginina, amoniaco, aminas primarias, secundarias y terciarias, y aminas cíclicas, tales como piperidina, morfolina y piperazina, y sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, cinc, aluminio y litio.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o composición debe ser compatible químicamente y/o toxicológicamente, con los otros componentes que comprenden una formulación, y/o el mamífero que está tratándose con la misma.

Un "solvato" se refiere a una asociación física o complejo de una o más moléculas de disolvente y un compuesto de la invención. Los compuestos pueden existir en formas no solvatadas, además de solvatadas. Ejemplos de disolventes que forman solvatos incluyen, pero no se limitan a, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de disolvente es agua. Esta asociación física implica grados variables de enlace iónico y covalente, que incluyen enlace de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato será capaz de aislamiento, por ejemplo cuando uno o más moléculas de disolvente se incorporen en la red cristalina del sólido cristalino. La preparación de solvatos es generalmente conocida, por ejemplo, M. Caira et al, *J. Pharmaceutical Sci.*, 93(3), 601 611 (2004). Preparaciones similares de solvatos, hemisolvato, hidratos y similares se describen por E. C. van Tonder et al, *AAPS PharmSciTech.*, 5(1), artículo 12 (2004); y A. L. Bingham et al, *Chem. Commun.*, 603 604 (2001). Un proceso no limitante típico implica disolver el compuesto inventivo en cantidades deseadas del disolvente deseado (mezclas orgánicas o con agua o del mismo) a una temperatura superior a la ambiente, y enfriamiento de la solución a una tasa suficiente para formar cristales que entonces se aíslan por métodos convencionales. Técnicas analíticas tales como, por ejemplo espectroscopía de IR muestran la presencia del disolvente (o agua) en los cristales como solvato (o hidrato).

El término "sinérgico", como se usa en el presente documento, se refiere a una combinación terapéutica que es más eficaz que los efectos aditivos de los dos o más agentes individuales. Una determinación de una interacción sinérgica entre un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede basarse en los resultados obtenidos de los ensayos descritos en el presente documento. Los resultados de estos ensayos pueden analizarse usando el método de combinación de Chou y Talalay y el análisis de dosis-efecto con el software CalcuSyn con el fin de obtener un índice de combinación (Chou y Talalay, 1984, *Adv. Enzyme Regul.* 22:27-55). Las combinaciones proporcionadas por la presente invención han sido evaluadas en varios sistemas de ensayo, y los datos pueden analizarse utilizando un programa estándar para cuantificar la sinergia, aditivismo y antagonismo entre agentes antineoplásicos. El programa utilizado, por ejemplo en la Figura 16, es el descrito por Chou y Talalay, "New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy", Academic Press, 1987, Capítulo 2. Valores del índice de combinación inferiores a 0,8 indican sinergia, valores superiores a 1,2 indican antagonismo y valores entre 0,8 y 1,2 indican efectos aditivos. La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y demostrar ser "sinérgica", es decir, el efecto logrado cuando los principios activos se usan juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan de usar los compuestos por separado. Un efecto sinérgico puede ser obtenido, en un ejemplo, cuando los principios activos son: (1) co-formulados y administrados o suministrados simultáneamente en una formulación de dosificación unitaria combinada; (2) administrados por alternancia o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) por algún otro régimen. Cuando se administran en terapia de alternancia, un efecto sinérgico puede ser obtenido cuando los compuestos se administran o suministran secuencialmente, por ejemplo, por diferentes inyecciones en jeringas separadas o por diferentes dosis orales. En general, durante la terapia de alternancia, una dosificación eficaz de cada principio activo se administra secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en terapia de combinación, dosificaciones eficaces de dos o más principios activos se administran juntas.

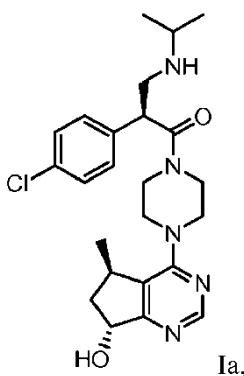
En algunos ejemplos (véanse las Figuras 18-20), se evaluaron los efectos de la combinación usando tanto el modelo de independencia de BLISS como el modelo del agente individual más alto (HSA) (Lehár et al. 2007, *Molecular Systems Biology* 3:80). Las puntuaciones de BLISS cuantifican el grado de potenciación de agentes individuales y una puntuación de BLISS > 0 sugiere más de aditividad simple. Una puntuación de HSA > 0 sugiere un efecto de

combinación superior al máximo de las respuestas del agente individual a concentraciones correspondientes.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento de melanoma metastásico o no extirpable. En un aspecto adicional, el efecto sinérgico tiene un valor del índice de combinación inferior a aproximadamente 0,8. En un aspecto adicional, el efecto sinérgico tiene una puntuación de BLISS superior a 0. En un aspecto adicional, el efecto sinérgico tiene una puntuación de HAS superior a 0. En un aspecto adicional, el trastorno hiperproliferativo comprende el estado nulo de PTEN, estado bajo de PTEN, una mutación PI3k, una mutación AKT o una expresión o actividad de pAKT alta.

Fórmula Ia

Los compuestos de fórmula Ia incluyen un compuesto de fórmula Ia:



y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

PREPARACIÓN DE COMPUESTOS DE FÓRMULA IA

Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse por rutas de síntesis que incluyen procesos análogos a aquellos muy conocidos en las ciencias químicas, particularmente en vista de la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están generalmente disponibles de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) o se preparan fácilmente usando métodos muy conocidos para aquellos expertos en la materia (por ejemplo, preparados por métodos generalmente descritos en Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999 ed.), o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, incluyendo suplementos). La síntesis del compuesto de fórmula Ia se describe en el Ejemplo 2.

MÉTODOS DE SEPARACIÓN

En cualquiera de los métodos sintéticos para preparar los compuestos de fórmula Ia, puede ser ventajoso separar productos de reacción entre sí y/o de los materiales de partida. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separan y/o purifican al grado deseado de homogeneidad por técnicas comunes en la materia. Normalmente, tales separaciones implican extracción multifásica, cristalización en un disolvente o mezcla de disolventes, destilación, sublimación o cromatografía. La cromatografía puede implicar cualquier número de métodos que incluyen, por ejemplo: métodos y aparato de cromatografía de fase inversa y fase normal; de exclusión por tamaño; de intercambio iónico; de líquidos de presión alta, media y baja; cromatografía analítica a pequeña escala; de lecho móvil simulado (SMB) y en capa fina o gruesa preparativa, además de técnicas de cromatografía en capa fina a pequeña escala y ultrarrápida.

Otra clase de métodos de separación implica el tratamiento de una mezcla de reacción con un reactivo seleccionado para unirse a o convertirse de otro modo en separable de un producto deseado, material de partida sin reaccionar, reacción por producto, o similares. Tales reactivos incluyen adsorbentes o absorbentes tales como carbono activo, tamices moleculares, medios de intercambio iónico, o similares. Alternativamente, los reactivos pueden ser ácidos en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de unión tales como anticuerpos, proteínas de unión, quelantes selectivos tales como éteres corona, reactivos de extracción iónica líquido/líquido (LIX), o similares.

La selección de métodos de separación apropiados depende de la naturaleza de los materiales implicados. Por ejemplo, punto de ebullición y peso molecular en destilación y sublimación, presencia o ausencia de grupos funcionales polares en cromatografía, estabilidad de los materiales en medios ácidos y básicos en extracción multifásica, y similares. Un experto en la materia aplicará técnicas lo más probable para lograr la separación

deseada.

Pueden separarse mezclas diaestereoméricas en sus diaestereómeros individuales basándose en sus diferencias fisicoquímicas por métodos muy conocidos para aquellos expertos en la materia, tales como por cromatografía y/o cristalización fraccionada. Los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diaestereomérica mediante reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separando los diaestereómeros y convirtiendo (por ejemplo, hidrolizando) los diaestereoisómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Por tanto, algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser atropisómeros (por ejemplo, biarilos sustituidos) y se consideran parte de la presente invención. Los enantiómeros también pueden separarse por el uso de una columna de HPLC quiral.

Puede obtenerse un estereoisómero individual, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero por resolución de la mezcla racémica usando un método tal como formación de diaestereómeros usando agentes de resolución ópticamente activos (Eliel, E. and Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994; Lochmuller, C. H., J. Chromatogr., (1975) 113(3):283-302). Pueden separarse y aislarse mezclas racémicas de compuestos quirales de la invención por cualquier método adecuado, que incluye: (1) formación de sales diaestereoméricas iónicas con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diaestereoméricos con reactivos de derivatización quiral, separación de los diaestereómeros y conversión en los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente en condiciones quirales. Véase: "Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology," Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York (1993).

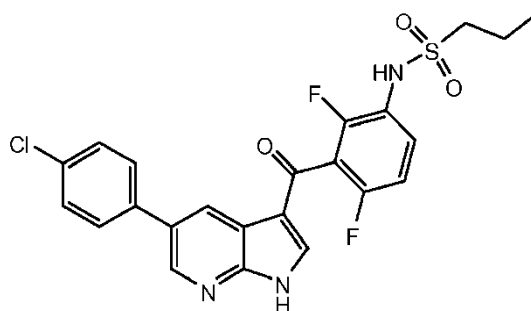
En el método (1), pueden formarse sales diaestereoméricas haciendo reaccionar bases quiral enantioméricamente puras tales como brucina, quinina, efedrina, estrichnina, α -metil- β -feniletilamina (anfetamina), y similares, con compuestos asimétricos que llevan funcionalidad ácido, tales como ácido carboxílico y ácido sulfónico. Las sales diaestereoméricas pueden ser inducidas a ser separadas mediante cristalización fraccionada o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de compuestos de amino, la adición de ácidos carboxílicos o sulfónicos quirales, tales como ácido canforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico o ácido láctico, puede producir la formación de las sales diaestereoméricas.

Alternativamente, por el método (2), el sustrato a resolver se hace reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diaestereomérico (E. and Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 322). Pueden formarse compuestos diaestereoméricos haciendo reaccionar compuestos asimétricos con reactivos de derivatización quirales enantioméricamente puros, tales como derivados de mentilo, seguido de la separación de los diaestereómeros e hidrólisis para dar el enantiómero puro o enriquecido. Un método de determinación de la pureza óptica implica preparar ésteres quirales, tales como un éster de mentilo, por ejemplo, cloroformiato de (-)-mentilo en presencia de base, o éster de Mosher, acetato de α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilo (Jacob III. J. Org. Chem., (1982) 4b:4165), de la mezcla racémica, y analizar el espectro de RMN ^1H para la presencia de los dos enantiómeros o diaestereómeros atropisoméricos. Pueden separarse y aislarse diaestereómeros estables de compuestos atropisoméricos por cromatografía de fase normal e inversa siguiendo métodos para la separación de naftil-isoquinolinas atropisoméricas (documento WO 96/15111). Por el método (3), puede separarse una mezcla racémica de dos enantiómeros por cromatografía usando una fase estacionaria quiral ("Chiral Liquid Chromatography" (1989) W. J. Lough, Ed., Chapman and Hall, New York; Okamoto, J. of Chromatogr., (1990) 513:375-378). Pueden distinguirse enantiómeros enriquecidos o purificados por métodos usados para distinguir otras moléculas quirales con átomos de carbono asimétricos, tales como rotación óptica y dicroísmo circular.

AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS

Ciertos agentes quimioterapéuticos han demostrado propiedades sorprendentes e inesperadas en combinación con un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en inhibir la proliferación celular *in vitro* e *in vivo*. Tales agentes quimioterapéuticos incluyen vemurafenib.

Se ha mostrado que vemurafenib (RG7204, PLX-4032, Reg. CAS N.º 1029872-55-5) produce la muerte celular programada en diversas líneas de células de cáncer, por ejemplo líneas de células de melanoma. Vemurafenib interrumpe la etapa B-Raf/MEK en la vía B-Raf/MEK/ERK - si B-Raf tiene la mutación V600E común. Vemurafenib funciona en pacientes, por ejemplo en pacientes con melanoma, como se autorizó por la FDA, cuyo cáncer tienen una mutación V600E de BRAF (es decir, en la posición de aminoácido número 600 en la proteína B-Raf, la valina normal está sustituida por ácido glutámico). Aproximadamente el 60 % de los melanomas tienen la mutación V600E de BRAF. La mutación V600E está presente en otros varios cánceres, que incluyen linfoma, cáncer de colon, melanoma, cáncer de tiroides y cáncer de pulmón. Vemurafenib tiene la siguiente estructura:



COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

- 5 Composiciones farmacéuticas o formulaciones de la presente invención incluyen combinaciones de compuestos de fórmula Ia, vemurafenib, y uno o más de vehículo, deslizante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un ejemplo incluye una primera formulación para administración oral de un compuesto de fórmula Ia, o una sal del mismo, y uno o más de vehículo, deslizante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, y una segunda formulación para administración oral de vemurafenib, o una sal del mismo, y uno o más de vehículo, deslizante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En un ejemplo, la primera formulación comprende GDC-0068 o una sal del mismo.

15 Los compuestos de fórmula Ia, y agentes quimioterapéuticos de la presente invención, puede existir en formas no solvatadas, además de solvatadas, con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares, y se pretende que la invención engloban tanto las formas solvatadas como no solvatadas.

Los compuestos de fórmula Ia, y el agente quimioterapéutico vemurafenib de la presente invención, también pueden existir en diferentes formas tautómeras, y todas aquellas formas están englobadas dentro del alcance de la invención. El término "tautómero" o "forma tautómera" se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles mediante una barrera de baja energía. Por ejemplo, tautómeros protónicos (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante migración de un protón, tal como isomerizaciones ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de enlace.

25 Las composiciones farmacéuticas engloban tanto la composición a granel como unidades de dosificación individuales que comprenden más de un (por ejemplo, dos) agente farmacéuticamente activo que incluye un compuesto de fórmula Ia y vemurafenib, junto con cualquier excipiente, diluyente, vehículo o deslizante farmacéuticamente inactivo. La composición a granel y cada unidad de dosificación individual puede contener cantidades fijas de los agentes farmacéuticamente activos anteriormente dichos. La composición a granel es material que todavía no ha sido formado en unidades de dosificación individuales. Una unidad de dosificación ilustrativa es una unidad de dosificación oral tal como comprimidos, píldoras, cápsulas, y similares. Las composiciones farmacéuticas también engloban compuestos isotópicamente marcados de la presente invención que son idénticos a aquellos citados en el presente documento, excepto por el hecho de que uno o más átomos están sustituidos con un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico normalmente encontrado en la naturaleza. Todos los isótopos de cualquier átomo o elemento particular como se especifica están contemplados dentro del alcance de los compuestos de la invención, y sus usos. Isótopos a modo de ejemplo que pueden incorporarse en los compuestos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I . Ciertos compuestos isotópicamente marcados de la presente invención (por ejemplo, aquellos marcados con ^3H y ^{14}C) son útiles en ensayos de distribución en tejido de compuesto y/o sustrato. Isótopos tritiados (^3H) y de carbono-14 (^{14}C) son útiles por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, requisitos de elevada semivida *in vivo* o reducida dosificación) y de ahí que puedan ser preferidos en algunas circunstancias. Son útiles emisores de isótopos de positrones tales como ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F para estudios de tomografía de emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación de receptores de sustrato. Generalmente, pueden prepararse compuestos isotópicamente marcados de la presente invención siguiendo procedimientos análogos a los desvelados en los esquemas y/o en los ejemplos en el presente documento más adelante, sustituyendo un reactivo no isotópicamente marcado con un reactivo isotópicamente marcado.

50 Los compuestos de fórmula Ia y agentes quimioterapéuticos se formulan según la práctica farmacéutica estándar para su uso en una combinación terapéutica para el tratamiento terapéutico (incluyendo tratamiento profiláctico) de trastornos hiperproliferativos en mamíferos que incluyen seres humanos.

55 Vehículos, diluyentes y excipientes adecuados son muy conocidos para aquellos expertos en la materia e incluyen materiales tales como hidratos de carbono, ceras, polímeros solubles en agua y/o hinchables, materiales hidrófilos o

hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El vehículo, diluyente o excipiente particular usado dependerá de los medios y fin para el que el compuesto de la presente invención está siendo administrado. Los disolventes se seleccionan generalmente basándose en disolventes reconocidos por los expertos en la materia como seguros (GRAS) para ser administrados a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG 400, PEG 300), etc. y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, opacificantes, deslizantes, adyuvantes de procesamiento, colorantes, edulcorantes, perfumantes, aromatizantes y otros aditivos conocidos por proporcionar una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o ayudar en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, medicamento).

Las formulaciones pueden prepararse usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Por ejemplo, el principio activo (es decir, el compuesto de la presente invención o forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de complejación conocido) se disuelve en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. El compuesto de la presente invención normalmente se formula en formas de dosificación farmacéuticas para proporcionar una dosificación fácilmente controlable del fármaco y para permitir el cumplimiento del paciente con el régimen prescrito.

La composición farmacéutica (o formulación) para administración puede envasarse en varias formas que dependen del método usado para administrar el fármaco. Generalmente, un artículo para distribución incluye un recipiente que tiene depositado en su interior la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Recipientes adecuados son muy conocidos para aquellos expertos en la materia e incluyen materiales tales como botellas (plástico y vidrio), sobres, ampollas, bolsas de plástico, cilindros de metal, y similares. El recipiente también puede incluir un montaje con cierre inviolable para prevenir el acceso indiscreto al contenido del envase. Además, el recipiente tiene depositado encima una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La marca también puede incluir advertencias apropiadas.

Las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención pueden prepararse para diversas vías y tipos de administración. Por ejemplo, un compuesto de fórmula la que tiene el grado deseado de pureza puede opcionalmente mezclarse con diluyentes, vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences (1995) 18ª edición, Mack Publ. Co., Easton, PA), en forma de una formulación liofilizada, polvo molido, o una solución acuosa. La formulación puede realizarse mezclando a temperatura ambiente al pH apropiado, y al grado deseado de pureza, con vehículos fisiológicamente aceptables, es decir, vehículos que son no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y la concentración de compuesto, pero puede oscilar de aproximadamente 3 a aproximadamente 8.

La formulación farmacéutica es preferentemente estéril. En particular, las formulaciones que van a usarse para administración *in vivo* deben ser estériles. Tal esterilización se realiza fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles.

La formulación farmacéutica generalmente puede almacenarse como una composición sólida, una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

Las formulaciones farmacéuticas se dosificarán y administrarán en un modo, es decir, cantidades, concentraciones, programas, curso, vehículos y vía de administración, de acuerdo con la buena práctica médica. Factores para la consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que está tratándose, el mamífero particular que está tratándose, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, el programa de administración, y otros factores conocidos para los profesionales médicos. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto que va a administrarse estará gobernada por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno mediado por el factor de coagulación. Tal cantidad está preferentemente por debajo de la cantidad que es tóxica para el hospedador o hace que el hospedador sea significativamente más susceptible a hemorragia.

Como propuesta general, la cantidad farmacéuticamente eficaz inicial del compuesto de fórmula la administrado por vía oral o por vía parenteral por dosis estará en el intervalo de aproximadamente 0,01-1000 mg/kg, concretamente aproximadamente 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal del paciente por día, con, en un ejemplo, siendo el intervalo inicial típico del compuesto usado 0,3 a 15 mg/kg/día. La dosis del compuesto de fórmula la y la dosis de vemurafenib que van a administrarse pueden oscilar para cada uno de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg por forma de dosificación unitaria, o, en un ejemplo, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg por forma de dosificación unitaria, y en otro ejemplo de aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mg. La dosis de compuesto de fórmula la y vemurafenib pueden administrarse en una relación de aproximadamente 1:50 a aproximadamente 50:1 en peso, o en una relación de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1 en peso.

Diluyentes, vehículos, excipientes y estabilizadores aceptables son no tóxicos para los receptores a las

dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Los principios activos farmacéuticos también pueden ser atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o de gelatina y microcápsulas de poli-(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de administración de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se desvelan en Remington's Pharmaceutical Sciences 18ª edición, (1995) Mack Publ. Co., Easton, PA.

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida de compuestos de fórmula Ia. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen un compuesto de fórmula Ia, matrices que están en forma de artículos moldeados, por ejemplo, películas, o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), o poli(alcohol vinílico)), polilactidas (documento US 3773919), copolímeros de ácido L-glutámico y L-glutamato de gamma-etilo, copolímeros de etileno-acetato de vinilo no degradables, ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D(-)3-hidroxibutírico.

Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para las vías de administración detalladas en el presente documento. Las formulaciones pueden convenientemente presentarse en forma de dosificación unitaria y puede prepararse por cualquiera de los métodos muy conocidos en la técnica de la farmacia. Técnicas y formulaciones generalmente se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences 18ª Ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo que constituye uno o más componentes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo uniformemente e íntimamente en asociación el principio activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y entonces, si fuera necesario, moldeando el producto.

Pueden prepararse formulaciones de un compuesto de fórmula Ia y/o vemurafenib adecuadas para administración por vía oral como unidades discretas tales como píldoras, cápsulas duras o blandas, por ejemplo, de gelatina, sellos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas o de aceite, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, jarabes o elixires, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula Ia y/o vemurafenib. La cantidad de compuesto de fórmula Ia y la cantidad de vemurafenib puede formularse en una píldora, cápsula, solución o suspensión como formulación combinada. Alternativamente, el compuesto de fórmula Ia y vemurafenib pueden formularse por separado en una píldora, cápsula, solución o suspensión para administración por alternancia.

Pueden prepararse formulaciones según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes que incluyen edulcorantes, aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación sabrosa. Pueden prepararse comprimidos por compresión comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma fluida tal como un tensioactivo o dispersante. Pueden prepararse comprimidos moldeados moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden opcionalmente recubrirse o ranurarse y opcionalmente se formulan de manera que se proporcione liberación lenta o controlada del principio activo de los mismos.

Los excipientes del comprimido de una formulación farmacéutica pueden incluir: Carga (o diluyente) para aumentar el volumen a granel del fármaco en polvo que constituye el comprimido; disgregantes para fomentar que el comprimido se rompa en fragmentos pequeños, idealmente partículas de fármaco individuales, cuando es ingerido y promover la rápida disolución y absorción de fármaco; aglutinantes para garantizar que los gránulos y comprimidos puedan formarse con la resistencia mecánica requerida y mantengan un comprimido junto después de haber sido comprimido, previniendo que se rompa en sus polvos componentes durante el envasado, transporte y manipulación rutinaria; deslizante para mejorar la fluidez del polvo que constituye el comprimido durante la producción; lubricante para garantizar que el polvo del comprimido no se adhiere al equipo usado para comprimir el comprimido durante la fabricación. Mejoran el flujo de las mezclas en polvo a través de las prensas y minimizan la fricción y rotura a medida que los comprimidos acabados son expulsados del equipo; antiadherente con función similar a la del deslizante, reducir la adhesión entre el polvo que constituye el comprimido y la máquina que se usa para punzonar la forma del comprimido durante la fabricación; aroma incorporado en comprimidos para darles un sabor más agradable o para enmascarar uno desagradable, y colorante para ayudar en la identificación y cumplimiento del paciente.

Los comprimidos que contienen el principio activo en mezcla con excipiente farmacéuticamente aceptable no tóxico que son adecuados para la fabricación de comprimidos son aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico o sódico, lactosa, fosfato de calcio o de sodio; agentes de granulación y disgregantes, tales como almidón de maíz, o ácido algínico; aglutinantes, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden recubrirse por técnicas conocidas que incluyen microencapsulación para retardar la disgregación y adsorción en el tubo gastrointestinal y así proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso del tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Para el tratamiento del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las formulaciones se administran preferentemente como una pomada o crema tópica que contiene el (los) principio(s) activo(s) en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 al 20 % peso/peso. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse con o bien un base de pomada parafínica o bien una miscible en agua. Alternativamente, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir un alcohol polihidroxlado, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tal como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que potencia la absorción o penetración del principio activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplos de tales potenciadores de la penetración dérmica incluyen sulfóxido de dimetilo y análogos relacionados.

La fase aceitosa de las emulsiones de la presente invención puede estar constituida de componentes conocidos de una manera conocida, que incluyen una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite, o con ambos, una grasa y un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa de estabilizador. Juntos, el (los) emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) constituyen una cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa comprenden una base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa aceitosa de las formulaciones de crema. Emulsionantes y estabilizadores de emulsión adecuados para su uso en la formulación incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

Las suspensiones acuosas de las formulaciones farmacéuticas contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, croscarmelosa, povidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga, y agentes dispersantes o humectantes tales como una fosfatida que existe de forma natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso (por ejemplo, poli(estearato de oxi-etileno)), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilen-sorbitano). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más aromatizantes y uno o más edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse según la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que han sido mencionados anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser una solución o una suspensión en un diluyente o disolvente aceptable por vía parenteral no tóxico, tal como una solución en 1,3-butanodiol o preparada a partir de un polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, pueden emplearse convencionalmente aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin puede emplearse cualquier aceite no volátil suave que incluye mono- o diglicéridos sintéticos. Además, asimismo pueden usarse ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con el material de vehículo para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del hospedador tratado y el modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación con el tiempo prevista para administración por vía oral a seres humanos puede contener aproximadamente 1 a 1000 mg de material activo combinado con una cantidad apropiada y conveniente de material de vehículo que puede variar de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 95 % de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medible para administración. Por ejemplo, una solución acuosa prevista para infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del principio activo por mililitro de solución con el fin de que pueda producirse la infusión de un volumen adecuado a una tasa de aproximadamente 30 ml/h.

Formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no

acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que puede incluir agentes de suspensión y espesantes.

5 Formulaciones adecuadas para administración tópica al ojo también incluyen colirios en los que el principio activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el principio activo. El principio activo está preferentemente presente en tales formulaciones en una concentración de aproximadamente el 0,5 al 20 % peso/peso, por ejemplo aproximadamente del 0,5 al 10 % peso/peso, por ejemplo aproximadamente el 1,5% peso/peso.

10 Formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el principio activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tales como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

15 Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

20 Formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 0,1 y 500 micrómetros en incrementos de micrómetros tales como 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administra por inhalación rápida a través de la fosa nasal o por inhalación a través de la boca para alcanzar los sacos alveolares. Formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas o aceitosas del principio activo. Formulaciones adecuadas para aerosol o administración de polvo seco pueden prepararse según métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como compuestos usados hasta la fecha en el tratamiento o la profilaxis trastornos como se describen más adelante.

25 Formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en spray que contienen además del principio activo vehículos tales como son conocidos en la técnica por ser apropiados.

30 Las formulaciones pueden envasarse en recipientes de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua, para inyección inmediatamente antes de uso. Soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo previamente descrito. Formulaciones de dosificación unitaria preferida son aquellas que contienen una dosis diaria o sub-dosis diaria unitaria, como se ha citado anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, del principio activo.

40 TERAPIA DE COMBINACIÓN

El compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se emplea en la presente invención en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento de melanoma metastásico o no extirpable. En ciertas realizaciones, un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se combina en una pauta de dosificación como terapia de combinación, con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tales compuestos pueden administrarse en cantidades que son eficaces con el fin previsto. En una realización, la combinación terapéutica se administra por una pauta de dosificación en la que la cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en un intervalo de dos veces al día a una vez cada tres semanas (q3wk), y la cantidad terapéuticamente eficaz de vemurafenib se administra en un intervalo de dos veces al día a una vez cada tres semanas.

La terapia de combinación puede administrarse como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra secuencialmente, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones. La administración combinada incluye coadministración, usando formulación separada, y administración consecutiva en cualquier orden, en la que preferentemente hay un periodo de tiempo mientras que ambos (o todos los) agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas.

En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 días después de que empiece la administración de vemurafenib o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otro aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 a 10 días antes de que empiece la administración de la combinación. En otro aspecto específico de la invención, la administración del compuesto de fórmula Ia o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo y la administración del vemurafenib o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo empiezan el mismo día.

Dosificaciones adecuadas para cualquiera de los agentes anteriormente co-administrados son aquellas actualmente usadas y puede ser reducidas debido a la acción combinada (sinergia) del agente recientemente identificado y otros agentes quimioterapéuticos o tratamientos, tales como para aumentar el índice terapéutico o mitigar la toxicidad u otros efectos secundarios o consecuencias.

En una realización particular de la terapia contra el cáncer, un compuesto de fórmula Ia, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede combinarse con vemurafenib, además de combinarse con terapia quirúrgica y radioterapia. Las cantidades del compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el (los) otro(s) agente(s) quimioterapéutico(s) farmacéuticamente activo(s) y los momentos relativos de administración se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

ADMINISTRACIÓN DE COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Los compuestos pueden administrarse por cualquier vía apropiada para la afección que va a tratarse. Vías adecuadas incluyen oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intrarterial, inhalación, intradérmica, intratecal, epidural, y técnicas de infusión), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Administración tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis.

La formulación de fármacos se trata en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Otros ejemplos de formulaciones de fármaco pueden encontrarse en Liberman, H. A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Vol 3, 2ª Ed., New York, NY. Para tratamiento inmunosupresor local, los compuestos pueden administrarse por administración intralesional, que incluye perfundir o poner en contacto de otro modo el injerto con el inhibidor antes del trasplante. Se apreciará que la vía preferida puede variar con, por ejemplo, la afección del receptor. Donde el compuesto se administra por vía oral, puede formularse como una píldora, cápsula, comprimido, etc., con un vehículo, deslizante o excipiente farmacéuticamente aceptable. Donde el compuesto se administra por vía parenteral, puede formularse con un vehículo o diluyente parenteral farmacéuticamente aceptable, y en una forma inyectable de dosificación unitaria, como se detalla más adelante.

Una dosis para tratar pacientes humanos puede oscilar de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 1600 mg por día del compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una dosis típica puede ser aproximadamente 50 mg a aproximadamente 800 mg del compuesto. Una dosis puede administrarse una vez al día (QD), dos veces al día (BID), o más frecuentemente, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD), que incluyen absorción, distribución, metabolismo y eliminación del compuesto particular. Además, los factores de toxicidad pueden influir en la dosificación y pauta de dosificación de la administración. Cuando se administran por vía oral, la píldora, cápsula o comprimido pueden ser ingeridos dos veces al día, diariamente o menos frecuentemente tal como semanalmente o una vez cada dos o tres semanas durante un periodo de tiempo especificado. El régimen puede repetirse durante varios ciclos de terapia.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Combinaciones terapéuticas de: (1) un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y (2) vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo son útiles para tratar melanoma metastásico o no extirpable. En algunos casos, el melanoma metastásico o no extirpable puede incluir, pero no se limita a, aquellos modulados por BRAF cinasa que comprende la mutación V600E, y en un ejemplo modulados además por niveles altos de expresión o activación de pAKT, en un mamífero. Cánceres que pueden tratarse según la presente invención incluyen, pero no se limitan a, melanoma no extirpable o metastásico.

Están comercialmente disponibles kits para probar si un paciente comprende la mutación V600E de BRAF. Un ejemplo es la prueba de mutación V600 de BRAF COBAS® 4800 (Roche Molecular Systems Inc.), que detecta la mutación V600E de BRAF en tejido de melanoma humano fijado en formalina incorporado en parafina (FFPET). Está autorizado en EE.UU. como un diagnóstico complementario para el tratamiento con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, diseñado para tratar pacientes cuyos tumores de melanoma albergan la forma mutada del gen BRAF. En investigaciones preclínicas y clínicas, la prueba de mutación de BRAF cobas® tuvo el 97,3% de concordancia positiva en detectar la mutación V600E de BRAF (1799 T>A), que representa >~85 % de todas las mutaciones de BRAF informadas en la base de datos COSMIC.

En tejido fijado en formalina incorporado en parafina (FFPET), la prueba de mutación de BRAF cobas® puede detectar mutaciones V600E al >5 % de nivel de mutación. La prueba también puede detectar otras mutaciones V600 tales como V600D y V600K. La prueba de mutación de BRAF cobas® puede realizarse en <8 horas desde la recepción del espécimen, tal como muestra de tejido o células tumorales obtenidas del paciente. La prueba de mutación V600 de BRAF cobas® 4800 es una prueba de PCR en tiempo real en cobas® 4800 System, v2.0, y pretende usarse como una ayuda en la selección de pacientes con melanoma cuyos tumores llevan la mutación V600E de BRAF para el tratamiento con vemurafenib, y en ciertas realizaciones, vemurafenib en combinación con un compuesto de fórmula Ia o una sal del mismo, tal como GDC-0068.

Un aspecto incluye GDC-0068 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de inhibición del crecimiento tumoral (ICT) en un paciente que padece melanoma metastásico o no extirpable que comprende una mutación V600E de BRAF, y en un ejemplo que comprende además niveles altos de expresión o activación de pAKT. En ciertas realizaciones, la combinación es sinérgica. En ciertas realizaciones, la ICT de la combinación es mayor que la ICT de ya sea GDC-0068 o vemurafenib solo. En ciertas realizaciones, la ICT de la combinación es aproximadamente el 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 o el 75 por ciento superior a la ICT de ya sea GDC-0068 o vemurafenib solo.

Se conocen en la técnica métodos de medición de ICT. En un método de ejemplo, se determinan volúmenes promedio tumoral y se comparan del paciente antes y después del tratamiento. Los volúmenes tumorales pueden medirse en dos dimensiones (longitud y anchura) usando cualquier método en la materia, por ejemplo compases calibradores UltraCal IV (Fred V. Fowler Company) o por TEP (tomografía de emisión de positrones), o por algún otro método. Puede usarse la fórmula volumen tumoral (mm^3) = (longitud x anchura²) x 0,5. La medida de volúmenes tumorales durante múltiples periodos de tiempo puede hacerse usando un enfoque de efectos mixtos lineales (LME) de modelado mixto (Pinheiro et al. 2009). Este enfoque puede tratar tanto mediciones repetidas (como múltiples pacientes). Pueden usarse interpolaciones polinómicas segmentarias de regresión cúbica para ajustarse a un perfil no lineal con los transcurso de tiempo del volumen tumoral a cada nivel de dosis. Estos perfiles no lineales pueden entonces relacionarse con la dosis dentro del modelo mixto. La inhibición del crecimiento tumoral como porcentaje de vehículo puede calcularse como un porcentaje del área bajo la curva (ABC) ajustada por día en relación con el vehículo, usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de ICT} = 100 \left[1 - \left(\frac{\text{ABC}_{\text{tratamiento}} / \text{día}}{\text{ABC}_{\text{vehículo}} / \text{día}} \right) \right]$$

Usando esta fórmula, un valor de ICT del 100 % indica estasis tumoral, superior a aproximadamente el 1 % pero inferior a aproximadamente el 100 % indica inhibición del crecimiento tumoral, y superior a aproximadamente el 100 % indica regresión tumoral.

En ciertas realizaciones, el paciente que está tratándose con la combinación ha sido tratado previamente con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, el paciente ha sido previamente tratado con vemurafenib y ha desarrollado resistencia a vemurafenib. En ciertas realizaciones, el cáncer ha regresado o reaparecido durante o después del tratamiento con el agente individual vemurafenib. En ciertas realizaciones, el cáncer comprende una mutación V600E de BRAF, pero ha llegado a ser resistente al tratamiento con vemurafenib y comprende además niveles altos de expresión o activación de pAKT. En ciertas realizaciones, el tratamiento de combinación de un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo actúa venciendo la resistencia a vemurafenib y tratando el cáncer reaparecido. En ciertas realizaciones, el cáncer es cáncer resistente a vemurafenib, por ejemplo melanoma metastásico. En un ejemplo, el cáncer que va a tratarse es melanoma no extirpable o metastásico resistente a vemurafenib. En ciertas realizaciones, el paciente ha recibido previamente, y en un ejemplo ha fracasado o reaparecido, la terapia con el agente individual vemurafenib antes que ser tratado con las combinaciones descritas en el presente documento (por ejemplo, GDC-0068 o una sal del mismo más vemurafenib o una sal del mismo).

En ciertas realizaciones, el cáncer comprende la mutación V600E de BRAF y una de las mutaciones AKT, PI3k o PTEN o señalización anómala de AKT, PI3k o PTEN. En un ejemplo, el paciente o tumor que va a tratarse comprende la mutación V600E de BRAF y altos niveles de pAKT.

Un aspecto incluye un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia como se define en la reivindicación 1. En una realización, la terapia como se define en la reivindicación 1 es de una enfermedad hiperproliferativa que incluye aquellas mediadas por las mutaciones V600E de BRAF, AKT, PTEN o PI3k, que incluyen, pero no se limitan a, melanoma metastásico. En la presente invención, el cáncer que va a tratarse es melanoma no extirpable o metastásico.

ARTÍCULOS DE FABRICACIÓN

También se describe un artículo de fabricación, o "kit", que contiene un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como se define en la reivindicación 1. En un caso, el kit comprende un recipiente y un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El kit puede comprender además una etiqueta o prospecto, sobre o asociada al recipiente. El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones y/o advertencias

referentes al uso de tales productos terapéuticos. Recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, envase alveolado, etc. El recipiente puede estar formado de varios materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente puede contener un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una formulación del mismo que es eficaz para tratar la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La etiqueta o prospecto indica que la composición se usa para tratar la afección de elección. Alternativamente, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, que incluyen otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

El kit puede comprender además instrucciones para la administración del compuesto de un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y vemurafenib. Por ejemplo, si el kit comprende una primera composición que comprende un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y vemurafenib, el kit puede comprender además mismo para la administración simultánea, secuencial o separada del compuesto de fórmula Ia y vemurafenib a un paciente en necesidad del mismo.

En otro caso, los kits son adecuados para la administración de formas orales sólidas de un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tales como comprimidos o cápsulas. Un kit tal incluye preferentemente varias dosificaciones unitarias. Tales kits pueden incluir una tarjeta que tiene las dosificaciones orientadas en el orden de su uso previsto. Un ejemplo de un kit tal es un "envase alveolado". Los envases alveolados son muy conocidos en la industria de los envases y se usan ampliamente para envasar formas farmacéuticas de dosificación unitaria. Si se desea, puede proporcionarse una ayuda de memoria, por ejemplo en forma de números, letras u otras marcas o con un calendario, que designa los días en el programa de tratamiento en los que las dosificaciones pueden administrarse.

Un kit puede comprender (a) un primer recipiente con un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo contenido en su interior; y (b) un segundo recipiente con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo contenido en su interior. Alternativamente, o adicionalmente, el kit puede comprender además un tercer recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, que incluye otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Donde el kit comprenda una composición de un compuesto de fórmula Ia o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y vemurafenib o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es decir, el agente quimioterapéutico, el kit puede comprender un recipiente para contener las composiciones separadas tales como un frasco dividido o un envase de aluminio dividido, sin embargo, las composiciones separadas también pueden estar contenidas dentro de un único recipiente no dividido. Normalmente, el kit comprende instrucciones para la administración de los componentes separados. La forma del kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados se administran preferentemente en diferentes formas de dosificación (por ejemplo, orales y parenterales), se administran a diferentes intervalos de dosificación, o cuando se desea el ajuste de los componentes individuales de la combinación por el médico que receta.

ASPECTOS ESPECÍFICOS DE LA INVENCION

En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo se administra simultáneamente con vemurafenib.

En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo se administra secuencialmente con vemurafenib.

En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo y vemurafenib se administran por separado.

En un aspecto específico de la invención, el melanoma comprende una mutación V600E de BRAF.

En un aspecto específico de la invención, el melanoma está asociado con niveles altos de expresión o activación de pAKT.

En un aspecto específico de la invención, el melanoma es resistente a terapia con el agente individual vemurafenib.

En un aspecto específico de la invención, la combinación del compuesto de fórmula Ia y vemurafenib proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento de melanoma, opcionalmente en la que el valor del índice de combinación del efecto sinérgico es inferior a aproximadamente 0,8.

- 5 En un aspecto específico de la invención, el paciente recibió previamente terapia con el agente individual vemurafenib.

Un aspecto específico de la invención se refiere a un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso terapéutico en mejorar la calidad de vida de un paciente tratado para melanoma metastásico o no extirpable con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

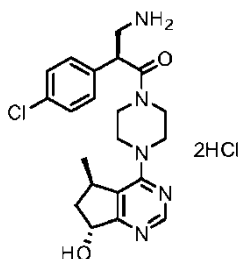
En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra por vía oral.

- 15 En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se formula como un comprimido.

Ejemplos

20 Con el fin de ilustrar la invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse que estos ejemplos no limitan la invención y solo pretenden sugerir un método de práctica de la invención. Expertos en la materia reconocerán que las reacciones químicas descritas pueden ser fácilmente adaptadas para preparar varios otros inhibidores de AKT de la invención, y se considera que métodos alternativos para preparar los compuestos de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, la síntesis de compuestos no ejemplificados según la invención puede ser satisfactoriamente realizada por modificaciones evidentes para aquellos expertos en la materia, por ejemplo, protegiendo apropiadamente grupos interferentes, utilizando otros reactivos adecuados conocidos en la técnica distintos de aquellos descritos, y/o haciendo modificaciones rutinarias de las condiciones de reacción. Alternativamente, se reconocerá que otras reacciones desveladas en el presente documento o conocidas en la técnica tienen aplicabilidad para preparar otros compuestos de la invención.

Ejemplo 1 (Ejemplo comparativo)



35 Preparación de diclorhidrato de (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona

Etapla 1: A un matraz redondo de 1 l se añadieron (R)-(+)-pulegona (76,12 g, 0,5 mmoles), NaHCO₃ anhidro (12,5 g) y éter anhidro (500 ml). La mezcla de reacción se enfrió con baño de hielo bajo nitrógeno. Se añadió gota a gota bromo (25,62 ml, 0,5 mmoles) durante 30 minutos. La mezcla se filtró y se añadió cuidadosamente a NaOEt (21 %, 412 ml, 1,11 mmoles) en un baño helado. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y entonces se añadieron 1 l de 5 % de HCl y 300 ml de éter. La fase acuosa se extrajo con éter (2 x 300 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó y se concentró. El residuo se añadió a una solución calentada de clorhidrato de semicarbazida (37,5 g) y NaOAc (37,5 g) en agua (300 ml), y luego se añadió etanol hirviendo (300 ml) dando una solución transparente. La mezcla se sometió a reflujo durante 2,5 horas y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se trató con 1 l de agua y 300 ml de éter. La fase acuosa se extrajo con éter (2 x 300 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó y se concentró. El residuo se purificó por destilación a vacío (73-76 °C a 0,8 mm de Hg) dando 2-metil-5-(propan-2-iliden)ciclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (63 g, 64 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 4,13 (m, 2H), 3,38 (d, J = 16 Hz, 0,5H), 2,93 (m, 0,5H), 2,50-2,17 (m, 2H), 1,98 (m, 1H), 1,76 (m, 1H), 1,23 (m, 6H), 1,05 (m, 6H).

Etapla 2: Se enfrió 2-metil-5-(propan-2-iliden)ciclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (24 g, 0,122 moles) en acetato de etilo (100 ml) a -68 °C con nieve carbónica/isopropanol. Se burbujeó oxígeno ozonizado (5-7 ft³h⁻¹ de O₂) a través de la solución durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se lavó con nitrógeno a temperatura ambiente hasta que desapareció el color. Se eliminó a vacío el acetato de etilo y el residuo se disolvió en 150 ml de ácido acético y se enfrió con agua con hielo, y se añadió polvo de cinc (45 g). La solución se agitó durante 30 minutos y entonces se filtró. El filtrado se neutralizó con NaOH 2 N (1,3 l) y NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo con éter (3 x 200 ml). La fase orgánica se combinó, se lavó con agua, se secó y se concentró proporcionando 2-metil-5-

oxociclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (20 g, 96 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 4,21 (m, 2H), 2,77 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,50-2,10 (m, 3H), 1,42 (m, 1H), 1,33 (m, 3H), 1,23 (m, 3H).

Etapa 3: A una solución de una mezcla de 2-metil-5-oxociclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (20 g, 117,5 mmoles) y tiourea (9,2 g, 120,9 mmoles) en etanol (100 ml) se añadió KOH (8,3 g, 147,9 mmoles) en agua (60 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 10 horas. Después de enfriarse, el disolvente se eliminó y el residuo se neutralizó con HCl concentrado (12 ml) a 0 °C y luego se extrajo con DCM (3 x 150 ml). El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexano/acetato de etilo (2:1) dando (R)-2-mercapto-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (12 g, 56 %). EM (APCI+) [M+H] +183.

Etapa 4: A una suspensión de (R)-2-mercapto-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (12 g, 65,8 mmoles) en agua destilada (100 ml) se añadió níquel Raney (15 g) y NH₄OH (20 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas, entonces se filtró, y el filtrado se concentró proporcionando (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (9,89 g, 99 %). EM (APCI+) [M+H] +151.

Etapa 5: Una mezcla de (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (5,8 g, 38,62 mmoles) en POCl₃ (20 ml) se sometió a reflujo durante 5 minutos. Se eliminó el exceso de POCl₃ a vacío y el residuo se disolvió en DCM (50 ml). La mezcla se añadió entonces a NaHCO₃ saturado (200 ml). La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 ml), y las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo dando (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (3,18 g, 49 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,81 (s, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,05 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,86 (m, 3H), 1,47 (m, 3H).

Etapa 6: A una solución de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (2,5 g, 14,8 mmoles) en CHCl₃ (60 ml) se añadió MCPBA (8,30 g, 37,0 mmoles) en tres porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se enfrió a 0 °C y a ésta se añadió gota a gota Na₂S₂O₃ (10 g) en agua (60 ml), seguido de Na₂CO₃ (6 g) en agua (20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos. La fase acuosa se extrajo con CHCl₃ (2 x 200 ml), y las fases orgánicas combinadas se concentraron a baja temperatura (<25 °C). El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo-DCM/MeOH (20:1) dando óxido de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (1,45 g, 53 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,66 (s, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,20 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,37 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

Etapa 7: Se calentó una solución de óxido de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (1,45 g, 7,85 mmoles) en anhídrido acético (20 ml) a 110 °C durante 2 horas. Después de enfriarse, se eliminó el exceso de disolvente a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con hexano/acetato de etilo (3:1) dando acetato de (5R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ilo (1,25 g, 70 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,92 (m, 1H), 6,30-6,03 (m, 1H), 3,60-3,30 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,40-2,20 (m, 1H), 2,15 (d, J = 6 Hz, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,47 (d, J = 6,8, 2H), 1,38 (d, J = 7,2, 1H). EM (APCI+) [M+H] +227.

Etapa 8: A una solución de acetato de (5R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ilo (0,5 g, 2,2 mmoles) en NMP (10 ml) se añadió 1-Boc-piperazina (0,9 g, 4,8 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 12 horas. Después de enfriarse, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (6 x 100 ml). La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo dando 4-((5R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,6 g, 72 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,60 (d, 1H), 6,05-5,90 (m, 1H), 3,80-3,30 (m, 9H), 2,84 (m, 1H), 2,20- (m, 1H), 1,49 (s, 9H), 1,29-1,20 (m, 3H). EM (APCI+) [M+H] +377. La mezcla resultante de los diaestereómeros se purificó por HPLC de separación quiral (columna Chiralcel ODH, 250 x 20 mm, hexano/EtOH 60:40, 21 ml/min). El primer pico (RT = 3,73 min) dio el 4-((5R,7R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de de terc-butilo (0,144 g, 24 %). El segundo pico (RT = 5,66 min) dio el 4-((5R,7S)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,172 g, 29 %). EM (APCI+) [M+H] +377.

Etapa 9: A una solución de 4-((5R,7R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,144 g, 0,383 mmoles) en THF (4 ml) se añadió LiOH (3 M, 2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas y entonces se extinguió con HCl 2 N (3 ml). El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo dando 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (89 mg, 70 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H), 5,48 (a, 1H), 5,14 (m, 1H), 3,82-3,40 (m, 9H), 2,20 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,19 (d, J = 6,8 Hz, 3H). EM (APCI+) [M+H] +335.

Etapa 10: Se trató 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo con HCl (4 M en dioxano, 2 ml) en DCM (5 ml) durante 6 horas dando diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol. EM (APCI+) [M+H] +235.

Etapa 11: Se disolvió 2,4-dimetoxibencilcarbamat de terc-butilo (3,96 g, 14,8 mmoles) en THF (74 ml) y se enfrió a -78 °C. La solución se trató con butil-litio (7,44 ml, 16,3 mmoles) gota a gota durante un periodo de cinco minutos

proporcionando una solución amarilla pálida. La solución se dejó con agitación durante 15 minutos antes de que se añadiera gota a gota cloro(metoxi)metano (1,35 ml, 17,8 mmoles) (puro). La reacción se agitó a -78 °C durante 10 minutos, luego se dejó que se calentara lentamente a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se concentró a vacío proporcionando un gel amarillo que se repartió entre solución semisaturada de NH₄Cl y éter. La fase acuosa se extrajo una vez, y los extractos orgánicos se combinaron. La fase orgánica se lavó con agua, luego salmuera, se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró a vacío. La RMN ¹H soporta el 2,4-dimetoxibencil(metoximetil)carbamato de terc-butilo casi puro deseado (>90 %) (4,81 g, rendimiento del 104 %) como un aceite amarillo pálido que se usó sin purificación.

Etapa 12: Se disolvió (R)-4-bencil-3-(2-(4-clorofenil)acetil)oxazolidin-2-ona (3,00 g, 9,10 mmoles) en DCM (91 ml) y se enfrió a -78 °C. Se añadió una solución 1 M de tolueno de TiCl₄ (11,4 ml, 11,4 mmoles) a la solución, seguido de DIEA (1,66 ml, 9,55 mmoles), proporcionando una reacción púrpura oscura. Ésta se dejó con agitación durante 15 minutos antes de que se añadiera 2,4-dimetoxibencil(metoximetil)carbamato de terc-butilo (3,40 g, 10,9 mmoles) como una solución en DCM (10 ml) gota a gota. La reacción se dejó con agitación durante 15 minutos a -78 °C, luego se dejó que se calentara a -18 °C en un baño de salmuera-hielo durante una hora. Esta reacción se dejó calentar lentamente a 0 °C durante un periodo de 2,5 horas. La reacción se inactivó entonces con la adición de solución saturada de NH₄Cl (100 ml). Se separaron las fases, y las fases orgánicas se extrajeron una vez con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío proporcionando un aceite amarillo. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice eluido con 4:1 de hexanos:acetato de etilo) proporcionando el material puro como un aceite incoloro 2,4-dimetoxibencil((S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil)carbamato de terc-butilo (4,07 g, rendimiento del 73,5 %). Este 2,4-dimetoxibencil((S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil)carbamato de terc-butilo (680 mg, 1,12 mmoles) se disolvió en DCM (10,6 ml) y agua (560 µl; 19:1 de DCM:agua) a temperatura ambiente. La solución se trató con DDQ (380 mg, 1,67 mmoles), y la reacción se dejó con agitación durante un día proporcionando el fin de la reacción por análisis de CCF y CL-EM. La reacción se diluyó con DCM y se lavó dos veces con solución semisaturada de NaHCO₃. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío proporcionando un aceite amarillo anaranjado. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice eluido con 9:1 de hexanos:acetato de etilo) proporcionando una mezcla del subproducto de aldehído y (S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (no separable) como un aceite amarillo pálido (729 mg de masa combinada). EM/CL (APCI+) m/z 359,1 [M-BOC+H]⁺.

Etapa 13: Se añadió 35 % de H₂O₂ (0,240 ml, 2,91 mmoles) a una solución de LiOH-H₂O (0,0978 g, 2,33 mmoles) en 2:1 de THF:H₂O (33 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 35 minutos, y entonces se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución que contenía una mezcla de (S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (0,535 g, 1,17 mmoles) y 2,4-dimetoxibenzaldehído (0,194 g, 1,17 mmoles) en THF (7 ml) mediante embudo de adición. Se dejó que el baño de hielo se calentara lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió entonces a 0 °C, y se añadió Na₂SO₃ 1 M (7 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos, y entonces se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20 minutos adicionales. La mezcla de reacción se transfirió entonces a un embudo de decantación y se lavó con éter (3 X). La fase acuosa se acidificó con KHSO₄ (s), y la mezcla se extrajo con DCM (2 X). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron dando ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,329 g, rendimiento del 94,2 %) como un residuo blanco. EM/CL (APCI+) m/z 200 [M-BOC+H]⁺.

Etapa 14: Se añadió HCl 4 M/dioxano (5,49 ml, 22,0 mmoles) a una solución de ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,329 g, 1,10 mmoles) en 2:1 de dioxano:DCM (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 horas), después de lo cual se concentró a 1/3 de volumen. La mezcla turbia resultante se diluyó con éter, y la mezcla se concentró otra vez a 1/3 de volumen. La mezcla se diluyó otra vez con éter (20 ml), y los sólidos se aislaron por filtración a través de un embudo de fritas de medio con presión de nitrógeno, se aclararon con éter (5 X 10 ml), se secaron bajo presión de nitrógeno y se secaron a vacío dando clorhidrato de ácido (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)propanoico (0,199 g, rendimiento del 76,8 %) como un polvo blanco. HPLC >99 % de área puro. EM/CL (APCI+) m/z 200.

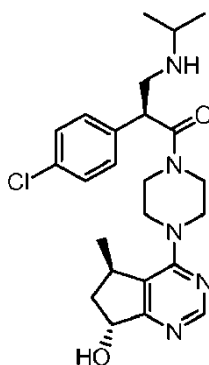
Etapa 15: Se añadió Boc₂O (0,368 g, 1,69 mmoles) a una solución de clorhidrato de ácido (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)propanoico (0,199 g, 0,843 mmoles) e hidróxido de tetrametilamonio pentahidratado (0,382 g, 2,11 mmoles) en 10:1 de MeCN:H₂O (7,7 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente (12 horas), después de lo cual se eliminó el MeCN en un evaporador rotatorio. La mezcla se diluyó con agua y se lavó con éter (2 X). La fase acuosa se acidificó con KHSO₄ (s), la mezcla se extrajo con DCM, y los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron dando ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,229 g, rendimiento del 90,6 %) como una espuma. HPLC >99 % de área puro. EM/CL (APCI+) m/z 200 [M-BOC+H]⁺.

Etapa 16: A una solución de diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (88 mg, 0,29 mmoles) y ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (86 mg, 0,29 mmoles) en DCM (10 ml) y diisopropiletilamina (0,22 ml, 1,3 mmoles) se añadió HBTU (110 mg, 0,29 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó y el residuo se disolvió en acetato

de etilo (100 ml), se lavó con agua (6x50 ml). La fase orgánica se secó y se concentró dando (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (116 mg, 78 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,51 (s, 1H), 7,34-7,20 (m, 4H), 5,15-5,09 (m, 2H), 4,15-4,05 (m, 1H), 3,87-3,85 (m, 2H), 3,78-3,38 (m, 7H), 3,22-3,19 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,41 (s, 9H), 1,14-1,12 (d, J=7,2Hz, 3H). EM (APCI+) [M+H] +516.

Etapa 17: Tratamiento de (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo con HCl (4 M en dioxano, 2 ml) en DCM (5 ml) durante 6 horas dando diclorhidrato de (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona. RMN ¹H (D₂O, 400 MHz) δ 8,38 (s, 1H), 7,37-7,35 (d, J=8,4Hz, 2H), 7,23-7,21 (d, J=8,4Hz, 2H), 5,29-5,25 (m, 1H), 4,64 (s, 9H), 4,31-4,28 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,88-3,79 (m, 2H), 3,70-3,20 (m, 10H), 2,23-2,17 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 1H), 1,22-1,20 (m, 2H), 0,98-0,96 (d, J = 6,8 Hz, 2H). EM (APCI+) [M+H] +416.

Ejemplo 2



(S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona

Etapa 1: Se enfrió pulegenato de etilo (130 g, 662 mmoles) en EtOAc (900 ml) a -78 °C usando un baño de nieve carbónica-isopropanol. Esta mezcla se sometió a ozonólisis hasta que la reacción viró a color púrpura. En este momento, cesó la generación de ozono y la reacción se sacó del baño de nieve carbónica. Se burbujeó oxígeno a través de la mezcla de reacción hasta que viró a amarilla. La mezcla de reacción se concentró a vacío, y el residuo resultante se disolvió en ácido acético glacial (400 ml). La solución se enfrió a 0 °C, y se añadió polvo de Zn (65 g, 993 mmoles) en porciones durante 30 minutos. La reacción se dejó entonces con agitación durante 2 horas, momento en el que la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite para eliminar el polvo de cinc. El ácido acético se neutralizó a pH 7 con NaOH acuoso y NaHCO₃ y se extrajo con éter (3 X 800 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con salmuera, MgSO₄ y se concentraron dando 2-metil-5-oxociclopentano-carboxilato de (2R)-etilo como líquido marrón (107 g, 95 %).

Etapa 2: Se añadió acetato de amonio (240,03 g, 3113,9 mmoles) a una solución de 2-metil-5-oxociclopentanocarboxilato de (R)-etilo (106,0 g, 622,78 mmoles) en MeOH (1,2 l). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 20 horas, después de lo cual estaba completa como se juzga por CCF y HPLC. La mezcla de reacción se concentró para eliminar MeOH. El residuo resultante se disolvió en DCM, se lavó dos veces con H₂O, una vez con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró dando 2-amino-5-metilciclopent-1-enocarboxilato de (R)-etilo (102 g, rendimiento del 97 %) como un aceite naranja. EM/CL (APCI+) m/z 170 [M+H]⁺.

Etapa 3: Se calentó una solución que contenía 2-amino-5-metilciclopent-1-enocarboxilato de (R)-etilo (161,61 g, 955,024 mmoles) y formiato de amonio (90,3298 g, 1432,54 mmoles) en formamida (303,456 ml, 7640,19 mmoles) a una temperatura interna de 150 °C y se agitó durante 17 horas. La mezcla de reacción se enfrió, y se transfirió a un matraz de una sola boca de 2 l. Entonces se eliminó el exceso de formamidina por destilación a alto vacío. Una vez dejó de pasar formamidina, el aceite restante en el alambique se disolvió en DCM y se lavó con salmuera (3 X 200 ml). Los lavados acuosos combinados se extrajeron con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. El aceite marrón resultante se disolvió en DCM mínimo, y esta solución se añadió usando un embudo de decantación a una solución con agitación de éter (aprox. 5 vol de éter frente a solución de DCM), causando que se formara algo de precipitado marrón. Este precipitado marrón se eliminó por filtración a través de un embudo de fritas de medio que se aclaró con éter y se desechó. El filtrado se concentró, la trituración en éter se repitió dos veces más y entonces se secó en una línea de alto vacío dando (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (93,225 g, rendimiento del 65,00 %) como un sólido pastoso marrón amarillento. EM/CL (APCI-) m/z 149,2.

Etapa 4: Se añadió lentamente POCl_3 puro (463,9 ml, 5067 mmoles) mediante embudo de adición a una solución a 0 °C de (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (152,2 g, 1013 mmoles) en DCE (1,2 l). Después de completarse la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, luego se calentó a reflujo y se agitó durante 70 minutos. La reacción estaba completa como se ha determinado por HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y el exceso de POCl_3 se inactivó en 4 porciones del siguiente modo: La mezcla de reacción se transfirió al embudo de decantación y se añadió gota a gota a un vaso de precipitados que contenía hielo y solución saturada de NaHCO_3 enfriada en un baño de hielo. Una vez se completó la adición de cada porción de la mezcla de reacción, la mezcla extinguida se agitó 30 minutos para garantizar la destrucción completa de POCl_3 antes de la transferencia al embudo de decantación. La mezcla se transfirió al embudo de decantación y se extrajo dos veces con DCM. Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El bruto se purificó sobre gel de sílice del siguiente modo: se suspendió gel de sílice (1 kg) en 9:1 de hexano:acetato de etilo sobre un embudo con fritas de 3 l, se asentó sílice a vacío, se recubrió con arena. El bruto se cargó con una mezcla de DCM/hexano, y el compuesto se eluyó usando matraces kitasato de 1 l a vacío. Los subproductos de alto R_f eluyeron primero, luego (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (104,4 g, rendimiento del 61,09 %) como un aceite marrón. Se añadió trietilamina (93,0 ml, 534 mmoles) y piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (34,8 g, 187 mmoles) a una solución de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (30,0 g, 178 mmoles) en n-BuOH (250 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo bajo nitrógeno y se agitó durante la noche (17 horas), después de lo cual se concentró en un evaporador rotatorio. El aceite resultante se disolvió en DCM, se lavó con H_2O , se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró. El aceite marrón resultante se purificó sobre gel de sílice eluyendo primero con 2:1 de hexano:acetato de etilo hasta que el producto eluyó limpiamente, luego gradiente 1:1 a 1:5 de DCM:acetato de etilo dando 4-(5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (42,0 g, rendimiento del 74,1 %) como un polvo beis. EM/CL (APCI+) m/z 319,1 [M+H]⁺.

Etapa 5: Se añadió 77 % máx. de MCPBA sólido (23,9 g, 107 mmoles) en porciones a una solución a 0 °C de 4-(5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (20,0 g, 62,8 mmoles) en CHCl_3 (310 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 90 minutos. La HPLC pareció similar después de 7,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, luego se añadieron NaHCO_3 (13,2 g, 157 mmoles) y otros 0,5 equivalentes de m-CPBA. La mezcla de reacción se agitó durante la noche (14 horas). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, y se añadió gota a gota una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (29,8 g, 188 mmoles) en H_2O (50 ml) mediante embudo de adición. Esto fue seguido de una solución de Na_2CO_3 (24,6 g, 232 mmoles) en H_2O (70 ml) mediante embudo de adición (la mezcla se vuelve homogénea). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, luego la mezcla se extrajo con CHCl_3 (3 X 150 ml). Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron dando el N-óxido. EM/CL (APCI+) m/z 335,1 [M+H]⁺.

Etapa 6: Se añadió Ac_2O (77,0 ml, 816 mmoles) al N-óxido (21,0 g, 62,8 mmoles) de la etapa 5. La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno en un baño de arena a 90 °C y se agitó durante 100 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se eliminó el exceso de anhídrido acético mediante evaporación rotatoria. El aceite resultante se disolvió en DCM, que luego se vertió cuidadosamente en Na_2CO_3 saturada con hielo. La mezcla se extrajo con DCM, y los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron dando 4-(7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (23,6 g, 100 %) como una espuma marrón. EM/CL (APCI+) m/z 377,1 [M+H]⁺.

Etapa 7: Se añadió $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (6,577 g, 156,7 mmoles) a una solución a 0 °C de 4-(7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (23,6 g, 62,69 mmoles) en 2:1 de THF: H_2O (320 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos, y entonces se calentó hasta temperatura ambiente. EM/CL pareció la misma a las 3 horas y 4,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, y luego se añadió NH_4Cl saturado a la mezcla. La mezcla se agitó durante 5 minutos, y la mayoría del THF se eliminó mediante evaporación rotatoria. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 X 250 ml), y los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M: 4:1 de DCM:acetato de etilo, luego gradiente a 1:1 a 1:4 de DCM:acetato de etilo. Una vez el producto estaba eluyendo, entonces se lavó acetato de etilo a través de la columna. Entonces 30:1 de DCM:MeOH eluyó el resto del producto (8,83 g). Las fracciones mezcladas se volvieron a someter a cromatografía ultrarrápida con Biotage 40M usando las mismas condiciones dando otros 2,99 g que dieron un rendimiento combinado de 4-(7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (11,82 g, rendimiento del 56,38 %) como una espuma marrón. EM/CL (APCI+) m/z 335,1 [M+H]⁺.

Etapa 8: Se añadió gota a gota una solución de DMSO (5,45 ml, 76,8 mmoles) en DCM (50 ml) mediante embudo de adición a una solución a -78 °C de cloruro de oxalilo (3,35 ml, 38,4 mmoles) en DCM (150 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 35 minutos, y entonces se añadió lentamente una solución de 4-(7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (9,17 g, 27,4 mmoles) en DCM (80 ml) mediante embudo de adición. La mezcla de reacción se agitó 1 hora adicional a -78 °C, después de lo cual se añadió trietilamina pura (18,0 ml, 129 mmoles) a la mezcla. La mezcla de reacción se dejó calentar entonces hasta temperatura ambiente, y entonces se agitó durante 30 minutos. Se añadió H_2O . La mezcla se extrajo con DCM (3 X 200 ml), y los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a vacío. El bruto se purificó sobre gel de sílice (Biotage 65M): la columna se lavó con aprox. 800 ml de 4:1 de DCM:EtOAc, luego

gradiente a 1:1 de DCM:acetato de etilo hasta que el producto eluye, luego 1:4 de DCM:EtOAc eluyó el producto dando 4-(5-metil-7-oxo-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (7,5 g, rendimiento del 82,3 %) como una espuma marrón. La espuma se concentró (3 X) en DCM/hexanos, que dio una espuma marrón muy clara. HPLC >95 % de área. EM/CL (APCI+) m/z 333 [M+H]⁺.

Etapa 9: Se añadieron trietilamina (4,33 ml, 31,1 mmoles; desgasificada con nitrógeno 30 minutos antes de uso) y ácido fórmico (1,36 ml, 36,1 mmoles; desgasificado con nitrógeno 30 minutos antes de uso) a una solución de 4-(5-metil-7-oxo-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (9,75 g, 29,3 mmoles) en DCM (210 ml; desgasificado con nitrógeno 30 minutos antes de uso). La mezcla se agitó durante 5 minutos, luego se añadió un catalizador de Ru (0,0933 g, 0,147 mmoles). La reacción se agitó bajo presión positiva de nitrógeno durante la noche (18 horas). La mezcla de reacción se concentró a sequedad y se secó a alto vacío. El material impuro se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M cargada con 1:1 de DCM:acetato de etilo, se lavó con 500 ml, luego 1:4 de DCM:acetato de etilo hasta que el producto (2º lugar), luego gradiente hasta acetato de etilo puro, luego 25:1 de DCM:MeOH eluyó el resto del producto. Las fracciones se combinaron y se concentraron en un evaporador rotatorio. El residuo se concentró otra vez en DCM/hexanos dando una mezcla de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (principal) y 4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (principal) (9,35 g, rendimiento del 95,3 %) como una espuma beis. EM/CL (APCI+) m/z 335 [M+H]⁺. La RMN ¹H (CDCl₃) muestra el 88 % por integración de carbinol-metino.

Etapa 10: Se añadió cloruro de 4-nitrobenzoílo (4,27 g, 23,0 mmoles) a una solución a 0 °C de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (7,0 g, 20,9 mmoles) y trietilamina (4,38 ml, 31,4 mmoles) en DCM (110 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después de que se añadiera NaHCO₃ saturado. La mezcla se agitó 10 minutos, y luego se extrajo con DCM. Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. El bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M (3:1 de hexanos:acetato de etilo cargaron el bruto, luego 2:1 de hexanos:acetato de etilo eluyeron 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo y algunas fracciones mezcladas). Entonces se eluyó 4-((5R,7S)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo usando 1:2 de hexanos:acetato de etilo. Las fracciones con producto se concentraron mediante evaporación rotatoria dando 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (8,55 g, rendimiento del 84,5 %) como una espuma amarilla. EM/CL (APCI+) m/z 484 [M+H]⁺. La RMN ¹H (CDCl₃) muestra un único diaestereómero. Las fracciones con el otro diaestereómero se concentraron mediante evaporación rotatoria dando 4-((5R,7S)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,356 g, rendimiento del 3,52 %) como una espuma marrón. EM/CL (APCI+) m/z 484 [M+H]⁺.

Etapa 11: Se añadió LiOH·H₂O (0,499 g, 11,9 mmoles) a una solución a 0 °C de 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (2,30 g, 4,76 mmoles) en 2:1 de THF:H₂O (40 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. El THF se eliminó mediante evaporación rotatoria, se añadió NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron (1 X) con NaHCO₃ saturado, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron dando 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (1,59 g, 100,0 % de rendimiento) como una espuma amarilla. La HPLC después del procesamiento solo producto > 98 % de área puro. EM/CL (APCI+) m/z 335 [M+H]⁺. Se preparó 4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo usando un método análogo.

Etapa 12: Se añadió HCl 4 M/dioxano (11,2 ml, 44,9 mmoles) a una solución de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,600 g, 1,79 mmoles) en dioxano (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante la noche (20 horas). La mezcla se concentró a sequedad y se secó en línea de alto vacío. El bruto se suspendió en éter, se sonicó y se agitó durante 5 minutos. Los sólidos se aislaron por filtración a través de un embudo de fritada de medio con presión de nitrógeno, se aclararon con éter, se secaron bajo presión de nitrógeno y se secaron adicionalmente en una línea de alto vacío dando diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (0,440 g, rendimiento del 79,8 %) como un polvo amarillo. EM/CL (APCI+) m/z 235. Se preparó diclorhidrato de (5R,7S)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol usando un método análogo.

Etapa 13: Se disolvieron/suspendieron 2-(4-clorofenil)acetato de metilo (36,7 g, 199 mmoles) y paraformaldehído (6,27 g, 209 mmoles) en DMSO (400 ml) y se trataron con NaOMe (537 mg, 9,94 mmoles). La mezcla se dejó con agitación a temperatura ambiente durante 2 horas hasta el fin por análisis por CCF del bruto. La reacción se vertió en agua helada (700 ml; emulsión blanca) y se neutralizó con la adición de solución 1 M de HCl. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 X), y los extractos orgánicos se combinaron. La fase orgánica se lavó con agua (2 X), salmuera (1 X), se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío proporcionando el producto en bruto como un aceite amarillo. El residuo se cargó sobre un filtro de fritada grande con gel de sílice y se eluyó con 9:1 de hexanos:acetato de etilo hasta que se recogió el material de partida/olefina. El lecho se eluyó luego con 1:1 de hexanos:acetato de etilo hasta que eluyó completamente el producto deseado puro. Las fracciones puras

concentradas dieron 2-(4-clorofenil)-3-hidroxipropanoato de metilo como un aceite incoloro (39,4 g, 92 %).

Etapas 14: Se disolvió 2-(4-clorofenil)-3-hidroxipropanoato de metilo (39,4 g, 184 mmoles) en DCM (500 ml) y se trató con TEA (64,0 ml, 459 mmoles). La solución se enfrió a 0 °C y se trató lentamente con MsCl (15,6 ml, 202 mmoles), luego se dejó con agitación durante 30 minutos hasta el fin por análisis por CCF. La solución se repartió con solución 1 N de HCl, y la fase acuosa se extrajo una vez con DCM. La fase orgánica combinada se lavó una vez más con solución 1 N de HCl, se separó, se lavó con solución diluida de NaHCO₃ y se separó. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío proporcionando un aceite naranja. El residuo se cargó sobre un filtro de fritas grande con un tapón de gel de sílice y se eluyó con 9:1 de hexanos:acetato de etilo proporcionando el producto deseado puro por análisis por CCF. Las fracciones puras concentradas dieron el 2-(4-clorofenil)acrilato de metilo como un aceite incoloro (30,8 g, 85 %). Este 2-(4-clorofenil)acrilato de metilo (500 mg, 2,54 mmoles) se añadió como una solución en THF (1,35 ml) a una solución con agitación de i-PrNH₂ (217 µl, 2,54 mmoles) en THF (5,0 ml) a 0 °C. La reacción se dejó con agitación a temperatura ambiente durante la noche hasta el fin por análisis de CL-EM. Se añadió Boc₂O (584 µl, 2,54 mmoles) a la amina con agitación mediante pipeta. La reacción se dejó con agitación durante la noche hasta el fin por análisis de CL-EM y de CCF de la mezcla. La solución se concentró a vacío proporcionando 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de metilo como un aceite incoloro (854 mg, 94 %). EM/CL (APCI+) m/z 256,1 [M-Boc]+.

Etapas 15: Se disolvió 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de metilo (133 g, 374 mmoles) en THF (1,0 l) y se trató con KOTEM (56,0 g, 392 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó con agitación durante la noche hasta el fin por análisis de CL-EM del bruto. La mezcla se concentró a vacío proporcionando una espuma húmeda, que se dejó secar a vacío durante la noche proporcionando 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de potasio como un sólido blanco (148,7 g, 105 %). EM/CL (APCI+) m/z 242,1 [M-Boc-K]+.

Etapas 16: Se disolvió 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de potasio (77,2 g, 203 mmoles) en THF (515 ml) y se trató con cloruro de pivaloilo (26,3 ml, 213 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó con agitación durante 3 horas para formar el anhídrido mixto. Se disolvió (S)-4-benciloxazolidin-2-ona (46,1 g, 260 mmoles) en THF (600 ml) y se enfrió a -78 °C en un matraz separado. La solución se trató con n-BuLi (102 ml de una solución 2,50 M en hexanos, 254 mmoles) y se dejó con agitación durante una hora. La solución de anhídrido preparada se añadió a la oxazolidinona de Li con agitación mediante cánula, y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se inactivó con la adición de solución saturada de cloruro de amonio, luego se repartió entre más agua y acetato de etilo. La fase acuosa se extrajo varias veces, y los extractos orgánicos se combinaron. La fase orgánica se lavó con agua, luego salmuera, se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó/separó (diaestereómeros) por cromatografía (gel de sílice eluido con 4:1 de hexanos:acetato de etilo) proporcionando los diaestereómeros completamente separados como un aceite viscoso: (R)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (12,16 g, 24 % basado en 1/2 de racemato de ácido) y (S)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (39,14 g, 77 % basado en 1/2 de racemato de ácido). EM/CL (APCI+) m/z 401,2 [M-Boc]+.

Etapas 17: Se añadió LiOH-H₂O (168 mg, 4,00 mmoles) a una solución con agitación de THF (30 ml) y agua (15 ml) a temperatura ambiente hasta que se disolvió. La mezcla se trató con peróxido de hidrógeno (658 µl de una solución al 35 % en peso en agua, 8,00 mmoles) y se dejó con agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos. La reacción se enfrió a 0 °C en un baño de hielo, y se añadió gota a gota el (S)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (1,00 g, 2,00 mmoles) mediante embudo de adición como una solución en THF (15 ml) durante 10 minutos. La mezcla se dejó con agitación durante la noche a temperatura ambiente hasta el fin por análisis de CL-EM del bruto. La reacción se enfrió a 0 °C, y entonces se trató con solución 1 M de Na₂SO₃ (9,00 ml) mediante embudo de adición durante un periodo de diez minutos. Después de completarse la adición, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla se concentró para eliminar el THF, y entonces se diluyó con agua. La fase acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo (se desechó). La fase acuosa se repartió con acetato de etilo, luego se trató gota a gota mientras se agitaba con HCl 1 M hasta que se obtuvo pH 2-3. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo, y los extractos orgánicos se combinaron. Los orgánicos se lavaron con salmuera, se separaron, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío. El producto de aceite incoloro se secó bajo alto vacío durante una hora proporcionando ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoico como un aceite viscoso/espuma (685 mg, 100 %). EM/CL (APCI+) m/z 242,1 [M-Boc]+.

Etapas 18: Se agitó una solución de diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (2,92 g, 9,51 mmoles) y ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoico (3,25 g, 9,51 mmoles) en DCM (40 ml) y DIEA (5,0 ml, 28,7 mmoles) a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió HBTU (3,61 g, 9,51 mmoles) a la mezcla. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó, y el residuo se disolvió en acetato de etilo (500 ml) y se lavó con agua (6 X 100 ml). La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se sometió a cromatografía en columna, se eluyó por EtOAc-DCM/MeOH (20:1) dando (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (3,68 g, 69 %). EM/CL (APCI+)

m/z 558,2 [M+H]⁺.

Etapla 19: Se disolvió el (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (2,50 g, 4,48 mmoles) en dioxano (22,4 ml) y se trató con HCl 4 M en dioxano (22,4 ml, 89,6 mmoles) a temperatura ambiente. La solución resultante se dejó con agitación durante la noche hasta el fin por análisis de CL-EM del bruto. La solución se concentró a vacío proporcionando un gel que se disolvió en una cantidad mínima de metanol (10 ml). La solución se transfirió mediante pipeta a éter con agitación (300 ml) proporcionando un precipitado blanco del producto deseado. La adición fue aproximadamente la mitad cuando el precipitado blanco se fundió en un gel amarillo. El material se concentró a vacío proporcionando un gel amarillo que se dejó reposar a presión reducida durante la noche dando diclorhidrato de (S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona como un polvo amarillo claro (2,14 g, 90 %).

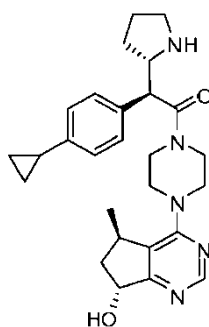
RMN ¹H (D₂O, 400 MHz) δ 8,39 (s, 1H), 7,37-7,35 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23-7,20 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,29-5,25 (m, 1H), 4,33-4,29 (m, 1H), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,89-3,19 (m, 11H), 2,23-2,17 (m, 1H), 2,08-1,99 (m, 1H), 1,20-1,18 (m, 6H), 0,98-0,96 (d, J = 6,8 Hz, 3H). EM (APCI⁺) [M+H]⁺ 458.

Los Ejemplos 3-9 (todos Ejemplos comparativos) mostrados en la Tabla 1 también pueden prepararse según los métodos anteriormente descritos.

Tabla 1

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	CL-EM o RMN ¹ H
3		(S)-2-(4-clorofenil)-3-(dimetilamino)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona	444,1
4		(S)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-1-(4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	510,3
5		(S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	458,3
6		(R)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	458

7		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(ciclopropilmetilamino)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona	CL-EM (APCI+) m/z 488, 490 [M+H] ⁺
8		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(tetrahidro-2H-piran-4-ilamino)propan-1-ona	CL-EM (APCI+) m/z 518, 520 [M+H] ⁺
9		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-((1r,4S)-4-metoxiciclohexilamino)prop an-1-ona	CL-EM (APCI+) m/z 546

Ejemplo 10 (Ejemplo comparativo)

5

(S)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)etanona

10 Etapa 1: Se trató bromuro de ciclopropilmagnesio (64,0 ml, 32,00 mmoles) en THF con una solución de cloruro de cinc (II) (64,00 ml, 32,00 mmoles) en THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadieron 2-(4-bromofenil)acetonitrilo (5,228 g, 26,67 mmoles) y bis[tri-*t*-butil-fosfina]paladio (0,6814 g, 1,333 mmoles) como una solución en THF (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 12 horas. La reacción se inactivó con NH₄Cl saturado, se diluyó con cloruro de metileno y se separó. La fase acuosa se lavó con cloruro de metileno (2 X), y entonces las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 X), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía sobre SiO₂ eluyendo con 25:1 de hexanos/acetato de etilo dando 2-(4-ciclopropilfenil)acetonitrilo (2,76 g, 66 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) □ 7,20 (d, J = 8,2, 2H), 7,07 (d, J = 8,2, 2H), 3,70 (s, 2H), 1,94-1,85 (m, 1H), 1,01-0,95 (m, 2H),

15

0,71-0,66 (m, 2H).

Etapa 2: Se enfrió metanol (65 ml) a 0 °C y se saturó con HCl (g). Esta solución se trató con una solución de 2-(4-ciclopropilfenil)acetonitrilo (2,76 g, 17,56 mmoles) en metanol (6 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche bajo un tubo secante que contenía CaSO₄. La reacción se enfrió y se concentró a vacío. La mezcla en bruto se resuspendió en acetato de etilo y agua y luego se separó. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado, NaCl saturado, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío proporcionando 2-(4-ciclopropilfenil)acetato de metilo como un aceite (3,10 g, 93 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,16 (d, J = 8,3, 2H), 7,02 (d, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,58 (s, 2H), 1,92-1,83 (m, 1H), 0,97-0,91 (m, 2H), 0,70-0,64 (m, 2H).

Etapa 3: Se disolvió 2-(4-ciclopropilfenil)acetato de metilo (3,10 g, 16,30 mmoles) en una mezcla de THF/MeOH/agua (2:2:1, 80 ml), y la solución se trató con hidróxido de litio hidratado (0,8548 g, 20,37 mmoles). La mezcla se agitó entonces a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó a un pH de 4 con HCl 3 N y se concentró a vacío. Los sólidos se redisolieron en acetato de etilo y agua. El pH se reajustó a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 con HCl 3 N. Entonces se separaron las fases. La fase acuosa se lavó con acetato de etilo (2 X). Las fases orgánicas combinadas se lavaron entonces con NaCl saturado, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron dando ácido 2-(4-ciclopropilfenil)acético (2,82 g, 98 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) □ 7,16 (d, J = 8,2, 2H), 7,03 (d, 2H), 3,60 (s, 2H), 1,92-1,83 (m, 1H), 0,98-0,91 (m, 2H), 0,70-0,64 (m, 2H).

Etapa 4: Se combinó ácido 2-(4-ciclopropilfenil)acético (2,82 g, 16,003 mmoles) con (R)-4-benciloxazolidin-2-ona (3,4030 g, 19,204 mmoles) en tolueno (14 ml). La suspensión se trató con trietilamina (6,6917 ml, 48,010 mmoles) y luego se calentó a 80 °C. La solución se trató gota a gota con una solución de cloruro de pivaloilo (1,9893 ml, 16,003 mmoles) en tolueno (3,5 ml). La reacción se calentó durante la noche a 80 °C. La reacción se enfrió y se lavó con HCl 2 N y luego se separó. La fase acuosa se lavó con tolueno, y los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con HCl 2 N, agua, NaHCO₃ saturado (2 X), NaCl saturado, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía sobre SiO₂ eluyendo con 9:1 de hexanos/acetato de etilo dando (R)-4-bencil-3-(2-(4-ciclopropilfenil)acetil)oxazolidin-2-ona (3,43 g, 64 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) □ 7,33-7,20 (m, 5H), 7,16-7,11 (m, 2H), 7,05 (d, J = 8,2, 2H), 4,70-4,63 (m, 1H), 4,32-4,14 (m, 4H), 3,26 (dd, J1 = 3,2, J2 = 13,3, 1H), 2,75 (dd, J1 = 9,5, J2 = 13,3, 1H), 1,93-1,85 (m, 1H), 0,98-0,92 (m, 2H), 0,72-0,66 (m, 2H).

Etapa 5: Se preparó ácido (S)-2-((S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-2-(4-ciclopropilfenil)acético según el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, usando (R)-4-bencil-3-(2-(4-ciclopropilfenil)acetil)oxazolidin-2-ona (0,287 g, 26 %). EM (ESI+) [M+H] 345,7.

Etapa 6: Se preparó 2-((S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo según el procedimiento descrito para el Ejemplo 3 usando (ácido S)-2-((S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-2-(4-ciclopropilfenil)acético, (0,199 g, 94 %). EM (ESI+) [M+H] 562,1.

Etapa 7: Se preparó (S)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)etanona según el procedimiento descrito para el Ejemplo 3 usando 2-((S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (0,145 g, 77 %). EM (ESI+) [M+H] 462,2. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) □ 8,56 (s, 1H), 7,26 (d, 2H), 7,13 (d, 2H), 5,29 (dd, 1H), 5,32-5,26 (dd, 1H), 4,32 (d, 1H), 4,29-4,18 (m, 1H), 4,12-3,95 (m, 2H), 3,88-3,61 (m, 6H), 3,51-3,38 (m, 1H), 3,35-3,30 (m, 1H), 2,32-2,24 (m, 1H), 2,22-2,03 (m, 2H), 1,95-1,85 (m, 2H), 1,82-1,73 (m, 2H), 1,40-1,34 (m, 1H), 1,16 (d, 3H), 1,01-0,95 (m, 2H), 0,69-0,64 (m, 2H).

Los ejemplos mostrados en la Tabla 2 (todos Ejemplos comparativos) también pueden prepararse según los métodos anteriormente descritos.

Tabla 2

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	CL-EM o RMN ¹ H
11		4-((S)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)-2-oxoetil)benzonitrilo	m/z 461,3; RMN ¹ H (500 MHz, DMSO-D ₆) d ppm 8,65 (s, 1H), 7,85 (d, 2H), 7,65 (d, 2H), 5,10 (t, 1H), 4,80 (d, 1H), 4,10-3,85 (m, 5H), 3,68 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 2,90 (s, 3H), 2,20-2,02 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,68 (m, 1H), 1,50 (m, 1H), 1,35-1,25 (m, 11H), 1,10 (d, 3H)

12		(S)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)etanona	m/z 490,3; RMN ¹ H (500 MHz, DMSO-D6) d ppm 9,18 (m, 1H), 8,85 (m, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,78 (d, 2H), 7,62 (d, 2H), 5,04 (t, 1H), 4,48 (d, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,95 (m, 2H), 3,75-3,50 (m, 6H), 3,42 (m, 2H), 3,30-3,10 (m, 4H), 2,10-1,90 (m, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,70-1,50 (m, 2H), 1,04 (d, 3H)
13		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-2-((S)-5,5-dimetilpirrolidin-2-il)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)etanona	CL-EM (APCI+) 502 [M+H] ⁺ ; 2,68 min; r.t. de HPLC = 1,98 min, >97 % de pureza; RMN ¹ H (400MHz, D ₂ O) d ppm 8,37 (s, 1H), 7,43 (t, J= 8,2Hz, 1H), 7,16 (d, J= 9,8Hz, 1H), 7,06 (d, J= 8,2Hz, 1H), 5,24 (t, J= 7,8Hz, 1H), 4,27 (d, J= 9,4Hz, 1H), 4,22-4,02 (m, 1H), 3,88-3,75 (m, 2H), 3,72-3,60 (m, 1H), 3,59-3,41 (m, 4H), 3,37-3,22 (m, 1H), 2,24-2,11 (m, 0,5H), 2,10-1,94 (m, 0,5H), 1,89-1,71 (m, 4H), 1,36 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 0,96 (d, J=7,0Hz, 3H)

Ejemplo 14 (Ejemplo de referencia) Ensayos de proliferación celular *in vitro*

Se midió la potencia *in vitro* de las combinaciones del compuesto del Ejemplo 2 con ciertos agentes quimioterapéuticos específicos usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo®, comercialmente disponible de Promega Corp., Madison, WI. Este método de ensayo homogéneo se basa en la expresión recombinante de luciferasa de *Coleoptera* (documentos US 5583024; US 5674713; US 5700670) y determina el número de células viables en cultivo basándose en la cuantificación de ATP presente, un indicador de células metabólicamente activas (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). El ensayo CellTiter-Glo® se realizó en formato de 96 o 384 pocillos, haciéndolo susceptible al cribado de alto rendimiento automatizado (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404). El procedimiento de ensayo homogéneo implica añadir el reactivo individual (reactivo de CellTiter-Glo®) directamente a células cultivadas en medio complementado con suero. No se requieren etapas de lavado de células, eliminación de medio y pipeteado múltiple. El sistema detecta tan solo 15 células/pocillo en un formato de 384 pocillos en 10 minutos después de añadir reactivo y mezclar.

El formato homogéneo de "añadir-mezclar-medir" produce la lisis de células y generación de una señal luminiscente proporcional a la cantidad de ATP presente. La cantidad de ATP es directamente proporcional al número de células presente en el cultivo. El ensayo CellTiter-Glo® genera una señal luminiscente "tipo brillo" producida por la reacción de luciferasa, que tiene una semivida generalmente superior a cinco horas, dependiendo del tipo de célula y el medio usado. Se reflejan células viables en unidades relativas de luminiscencia (URL). El sustrato, luciferina de escarabajo, es oxidativamente descarboxilado por luciferasa de luciérnaga recombinante con conversión simultánea de ATP en AMP y generación de fotones. La prolongada semivida elimina la necesidad de usar inyectores de reactivo y proporciona flexibilidad para el procesamiento en modo continuo o discontinuo de múltiples placas. Este ensayo de proliferación celular puede usarse con diversos formatos multipocillo, por ejemplo, formato de 96 o 384 pocillos. Los datos pueden registrarse por luminómetro o dispositivo de obtención de imágenes de cámara CCD. La salida de luminiscencia se presenta como unidades relativas de luz (URL), medida con el tiempo.

Se midieron los efectos antiproliferativos de combinaciones del compuesto del Ejemplo 2 y ciertos agentes quimioterapéuticos usando el ensayo CellTiter-Glo®. Se establecieron valores de CE₅₀ para los compuestos probados y combinaciones. El intervalo de actividades de potencia celular *in vitro* fue aproximadamente 100 nM a aproximadamente 10 μM. Datos para combinaciones representativas se proporcionan en las Figuras 16-20. Los datos en la Figura 16 demuestran que las combinaciones representativas proporcionan actividad aditiva o sinérgica contra varios tipos de cáncer. La Figura 17 ilustra que los efectos de combinación del Ejemplo 2 con 5FU/C están asociados a la activación de la vía de AKT. La Figura 18 ilustra la actividad del Ejemplo 2 más combinaciones de 5-FU/cisplatino en líneas gástricas. La Figura 19 ilustra que el Ejemplo 2 más combinaciones de docetaxel muestran el máximo efecto en la línea nula PTEN que tuvo respuesta mínima del agente individual a la fórmula I. La Figura 20 ilustra que el Ejemplo 2 más combinaciones de docetaxel son más débiles en líneas celulares normales PTEN.

Ejemplo 15 (Ejemplo de referencia) Eficacia de xenoinjerto de tumor *in vivo*

Puede medirse la eficacia de combinaciones representativas de la invención *in vivo* implantando aloinjertos o xenoinjertos de células cancerosas en roedores y tratando los animales portadores de tumor con las combinaciones. Cabe esperar resultados variables dependiendo de la línea celular, la presencia o ausencia de ciertas mutaciones en las células tumorales, la secuencia de administración del compuesto del Ejemplo 2 y el agente quimioterapéutico, pauta de dosificación, y otros factores. Se trataron ratones objeto con fármaco(s) o control (Vehículo) y se monitorizaron durante varias semanas o más para medir el tiempo hasta la duplicación del tumor, logaritmo de destrucción celular e inhibición tumoral.

Los resultados para combinaciones representativas de la invención que se probaron en este modelo se presentan en las Figuras 1-9. La Figura 1 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores de próstata primarios LuCap35V. La Figura 2 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado intermitentemente ya sea PO o IP y docetaxel en tumores de próstata PC3-NCI. La Figura 3 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y docetaxel en tumores de próstata PC3-NCI. La Figura 4 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado IP intermitentemente y docetaxel en tumores MCF7-neo/HER2. La Figura 5 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y docetaxel en tumores de mama MCF7-neo/HER2. La Figura 6 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores mamarios MAXF401. La Figura 7 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y docetaxel en tumores de ovario SKOV3. La Figura 8 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y cisplatino en tumores de ovario SKOV3. La Figura 9 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 dosificado PO y carboplatino en tumores de ovario IGROV-1. La Figura 10 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 2,5 mg/kg en tumores NCI-NSCL H2122. La Figura 11 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 5,0 mg/kg en tumores NSCLC NCI-H2122. La Figura 12 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y GDC-0973 a 7,5 mg/kg en tumores NSCLC NCI-H2122. La Figura 13 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y MDV3100 en tumores LuCap35V.

La Figura 14 ilustra los resultados de la combinación de GDC-0068 y B20 (avastina murina) en un modelo de cáncer de mama. La Figura 15 ilustra los resultados para el compuesto del Ejemplo 2 y Tarceva en tumores NCI-H2122 (mutante Kras).

Ejemplo 16 Experimentos de viabilidad celular (potencia) *in vitro*

Se midió la potencia *in vitro* de las combinaciones de vemurafenib con GDC-0068 por el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo®, comercialmente disponible de Promega Corp., Madison, WI. Este método de ensayo homogéneo determina el número de células viables en cultivo basándose en la cuantificación de ATP presente, un indicador de células metabólicamente activas (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88). Para determinar la función de vemurafenib con GDC-0068 en la supervivencia celular, se cuantificó la cantidad de fragmentos de ADN asociados a histona citoplásmica usando el kit Cell Death Detection ELISA Plus (Roche, Mannheim, Alemania). Ambos ensayos se realizaron en formato de 96 o 384 pocillos, haciendo los ensayos susceptibles al cribado de alto rendimiento automatizado (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404). En algunos casos, los valores de CE₅₀ medidos individuales de vemurafenib con GDC-0068 se compararon con el valor de combinación de CE₅₀ y se calcula una puntuación del índice de combinación por el método de Chou y Talalay (Chou, T. y Talalay, P. (1984) Adv. Enzyme Regul. 22:27-55). La intensidad de la sinergia se puntúa usando el sistema de clasificación publicado. Se prepararon células resistentes a vemurafenib propagando células A375 parentales en concentraciones crecientes de vemurafenib para lograr la resistencia (Su, F., et al. Cancer Res. (2012) 72:969-978).

Los datos en las figuras demuestran que combinaciones representativas proporcionan resultados mejorados en comparación con la administración de los agentes respectivos individualmente. Por ejemplo, en el modelo de tumor humano de próstata primario LuCap35V, la combinación del Ejemplo 2 y docetaxel produjo regresiones tumorales mientras que el agente individual de cualquier compuesto solo produjo estasis tumoral (Figura 1). Adicionalmente, la combinación del Ejemplo 2 y cisplatino produjo mayor inhibición del crecimiento tumoral que cualquier agente individual solo en el modelo de tumor humano de ovario SKOV3 (Figura 7).

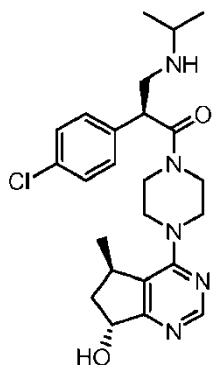
Se ha determinado que ciertas combinaciones de la invención proporcionan efectos mejorados contra ciertos fenotipos de cáncer. Por ejemplo, ciertas combinaciones de la invención proporcionan efectos mejorados contra cánceres asociados a la mutación PTEN (o estado bajo o nulo), mutación AKT (o expresión o niveles de amplificación de pAKT altos), mutación PI3K o amplificación de Her2/ErbB2. Por consiguiente, ciertas combinaciones descritas en el presente documento pueden ser particularmente útiles contra estos tipos de cánceres. Por ejemplo, en cáncer gástrico, la pérdida de PTEN predice mejor eficacia con ciertas combinaciones de la invención (por ejemplo, un compuesto de fórmula I con 5-FU/cisplatino), y en cáncer de próstata se observó un efecto más fuerte para una combinación de un compuesto de fórmula I y docetaxel en líneas nulas para PTEN. En otro ejemplo, en cáncer gástrico, PTEN bajo produce mejor eficacia con ciertas combinaciones de la invención (por ejemplo, un compuesto de fórmula I con 5-FU/cisplatino), y en cáncer de próstata se observó un efecto más fuerte para una combinación de un compuesto de fórmula I y docetaxel en líneas de PTEN bajo.

El estado nulo (o bajo) de PTEN puede medirse por cualquier medio adecuado como se conoce en la técnica. En un ejemplo, se usa IHC. Alternativamente, puede usarse análisis de transferencia Western. Anticuerpos contra PTEN están comercialmente disponibles (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, Cascade Biosciences, Winchester, MA). Procedimientos de ejemplo para IHC y análisis de transferencia Western para el estado de PTEN se describen en Neshat, M. S. et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR, Proc. Natl Acad. Sci. USA 98, 10314-10319 (2001) y Perren, A., et. al. Immunohistochemical Evidence of Loss of PTEN Expression in Primary Ductal Adenocarcinomas of the Breast, American Journal of Pathology, Vol. 155, No. 4, octubre de 1999. Adicionalmente, pueden identificarse cánceres asociados a mutación AKT, mutación PI3K, y con amplificación de Her2/ErbB2 usando técnicas que se conocen en la técnica.

Puede medirse el nivel de activación o fosforilación de AKT ("pAKT") en comparación con el nivel de AKT no activado o no fosforilado en una muestra dada por métodos conocidos en la técnica. El estado de pAKT puede expresarse en términos de una relación (por ejemplo, cantidad de pAKT en una célula tumoral dividido entre la cantidad pAKT en una célula no tumoral del mismo tipo) o una resta (por ejemplo, cantidad de pAKT en una célula tumoral menos cantidad de pAKT en la célula o en una célula no tumoral del mismo tipo). El perfil de pAKT también puede expresarse en términos del nivel de activación de la vía midiendo las cantidades de dianas fosforiladas en la dirección 3' de AKT (por ejemplo, pGSK o PRAS40). pAKT alto se refiere a niveles de activación o fosforilación de AKT en general en la muestra que son superiores a un valor de referencia. En un ejemplo, el valor de referencia es los niveles basales de pAKT para un tipo dado de célula. En otro ejemplo, el valor de referencia es el nivel promedio o medio de pAKT en una población dada de células de muestra, por ejemplo no cancerosas o células. En otro ejemplo, pAKT alto se refiere a una célula tumoral que expresa o amplifica en exceso AKT fosforilado o activado en la célula, cuando se compara con un promedio de células sanas normales (por ejemplo, no tumorales) del mismo tipo de cualquiera del mismo mamífero o una población de pacientes. El perfil de pAKT también puede usarse conjuntamente con otros marcadores, por ejemplo perfiles de localización de FOXO3a, para predecir la eficacia de ciertos inhibidores de la vía de cinasa PI3k/AKT, o por ejemplo con estado de mutación V600E de BRAF, para predecir la eficacia de ciertas combinaciones de compuestos de fórmula Ia con vemurafenib, particularmente en pacientes con cánceres resistentes a vemurafenib, tales como melanoma metastásico o no extirpable. Están comercialmente disponibles kits para medir pAKT en muestras de tejido (por ejemplo, kit phospho-Akt (Thr308) STAR ELISA, EMD Millipore).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula Ia:



Ia,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico de melanoma metastásico o no extirpable.

2. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo se administran simultáneamente con vemurafenib.

3. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo se administran secuencialmente con vemurafenib.

4. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia o la sal del mismo y vemurafenib se administran por separado.

5. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el melanoma comprende una mutación V600E de BRAF.

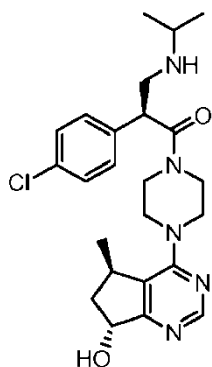
6. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el melanoma está asociado a niveles altos de expresión o de activación de pAKT.

7. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el melanoma es resistente a terapia con el agente individual vemurafenib.

8. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la combinación del compuesto de fórmula Ia y vemurafenib proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento de melanoma, opcionalmente en donde valor del índice de combinación del efecto sinérgico es inferior a aproximadamente 0,8.

9. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el paciente previamente recibió terapia con el agente individual vemurafenib.

10. Un compuesto de fórmula Ia



Ia,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso terapéutico para mejorar la calidad de vida de un paciente tratado para melanoma metastásico o no extirpable con vemurafenib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

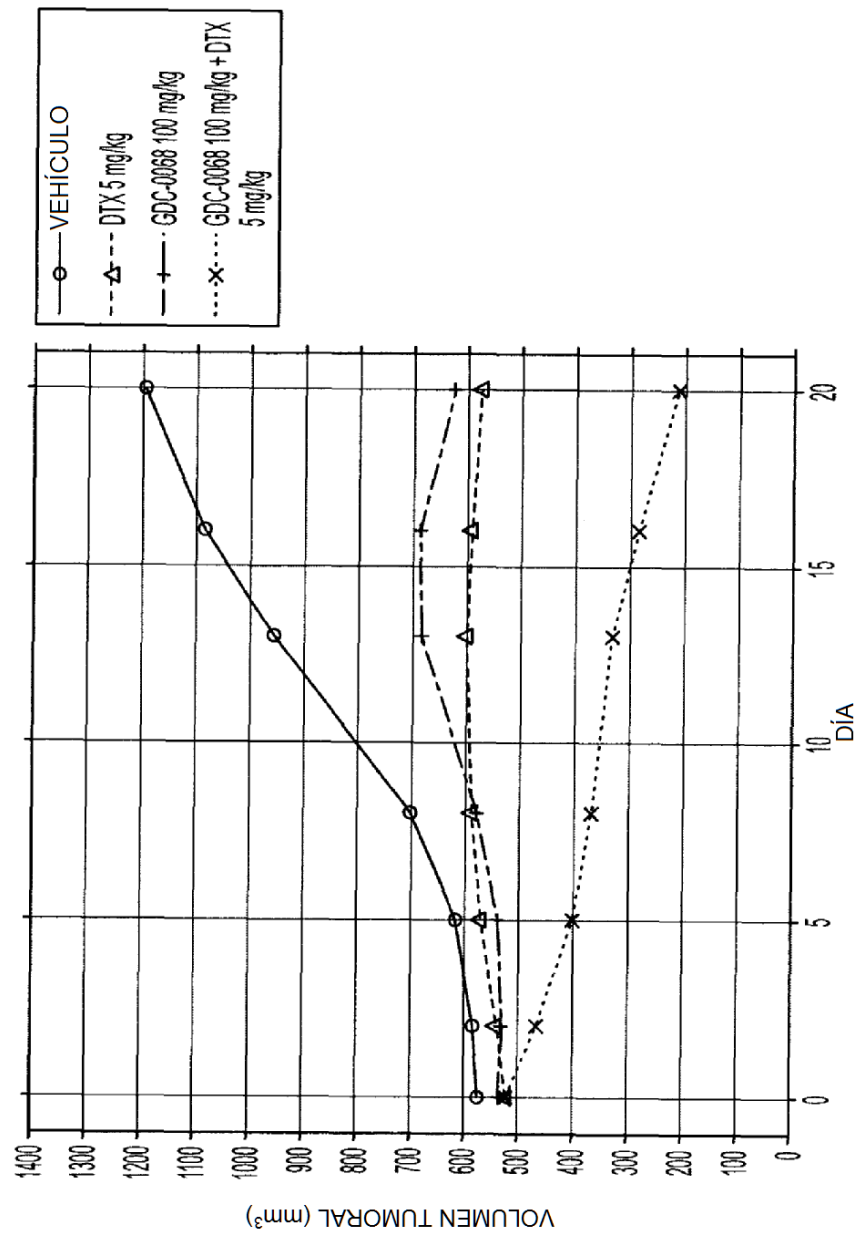
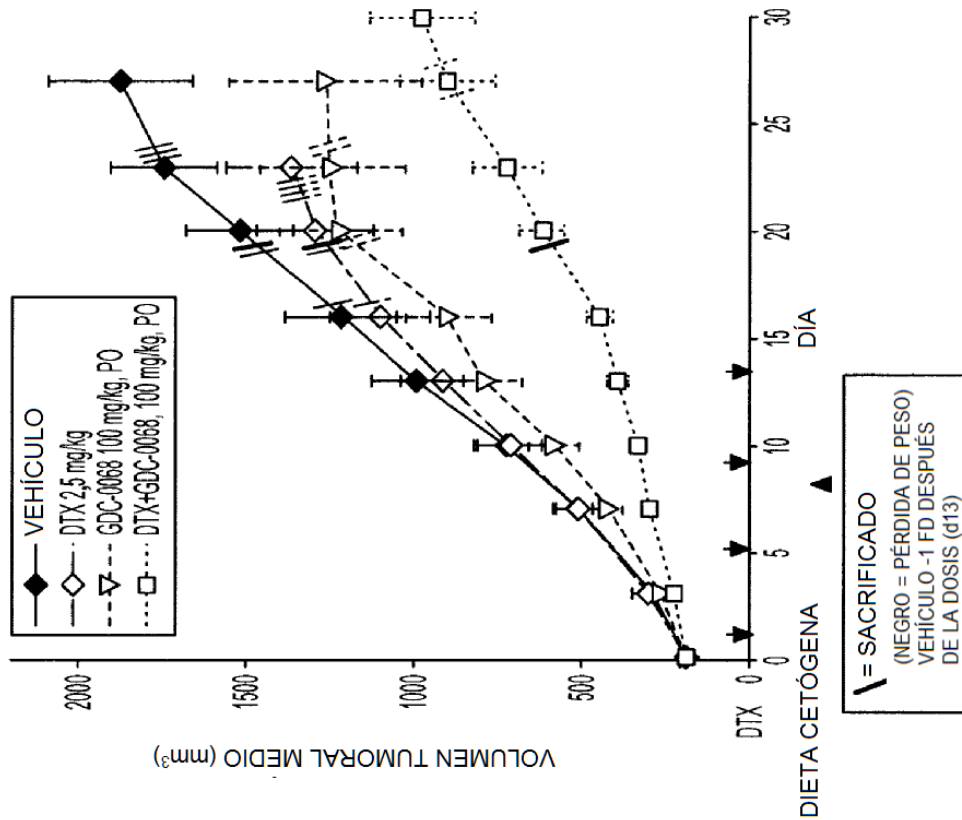
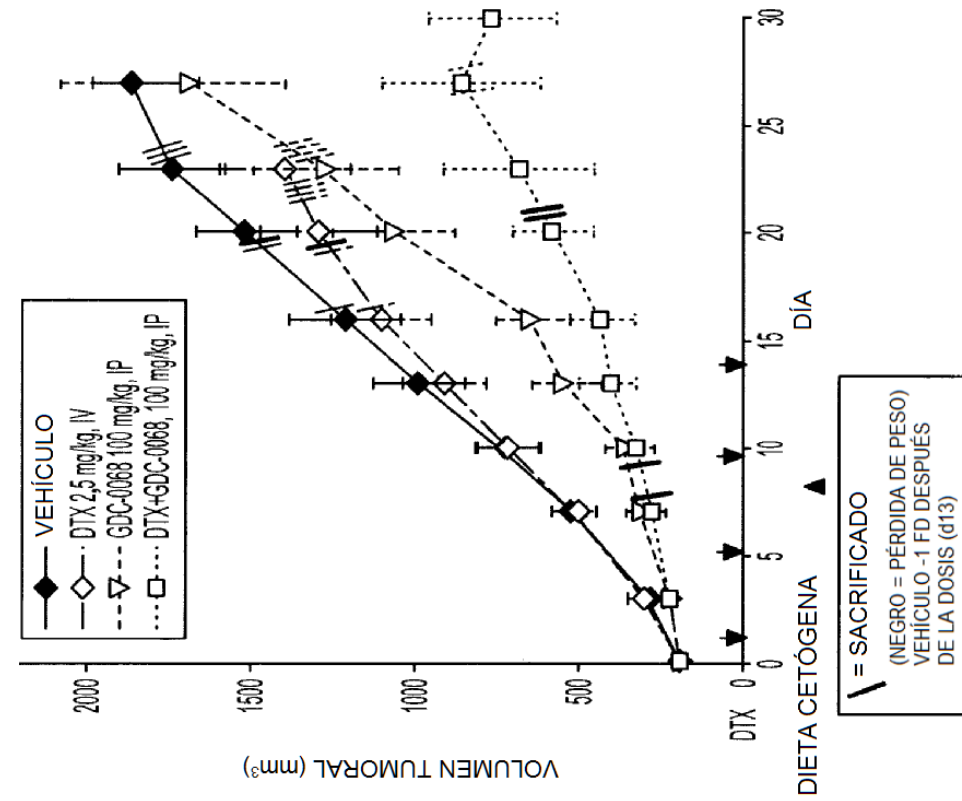


FIG. 1



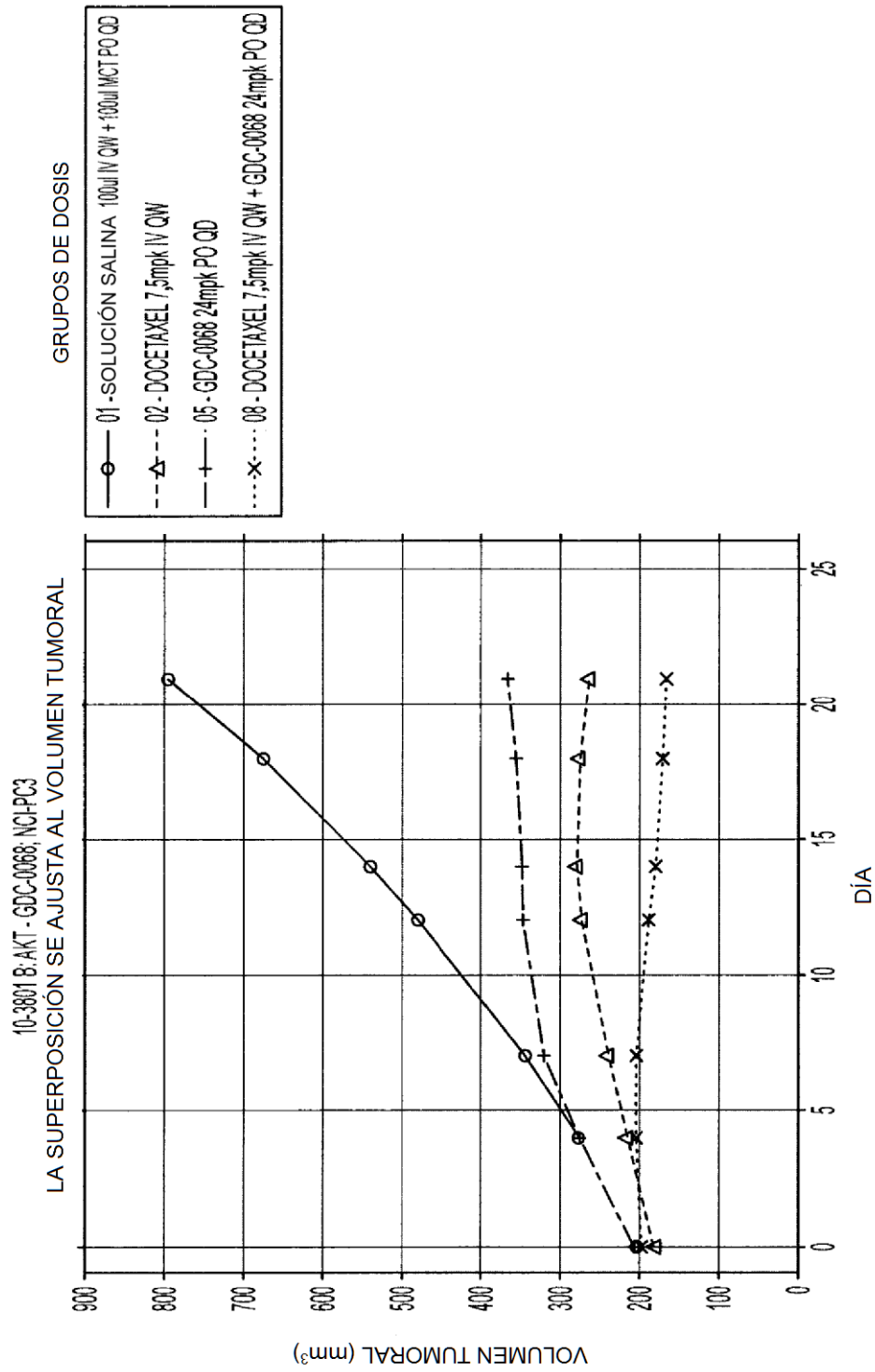


FIG. 3

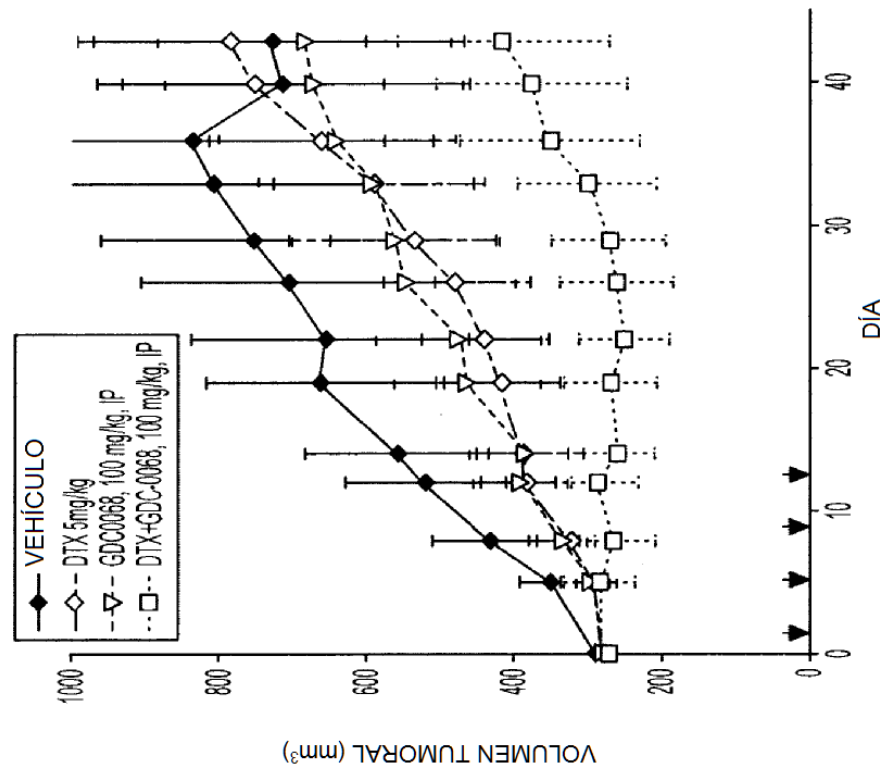


FIG. 4B

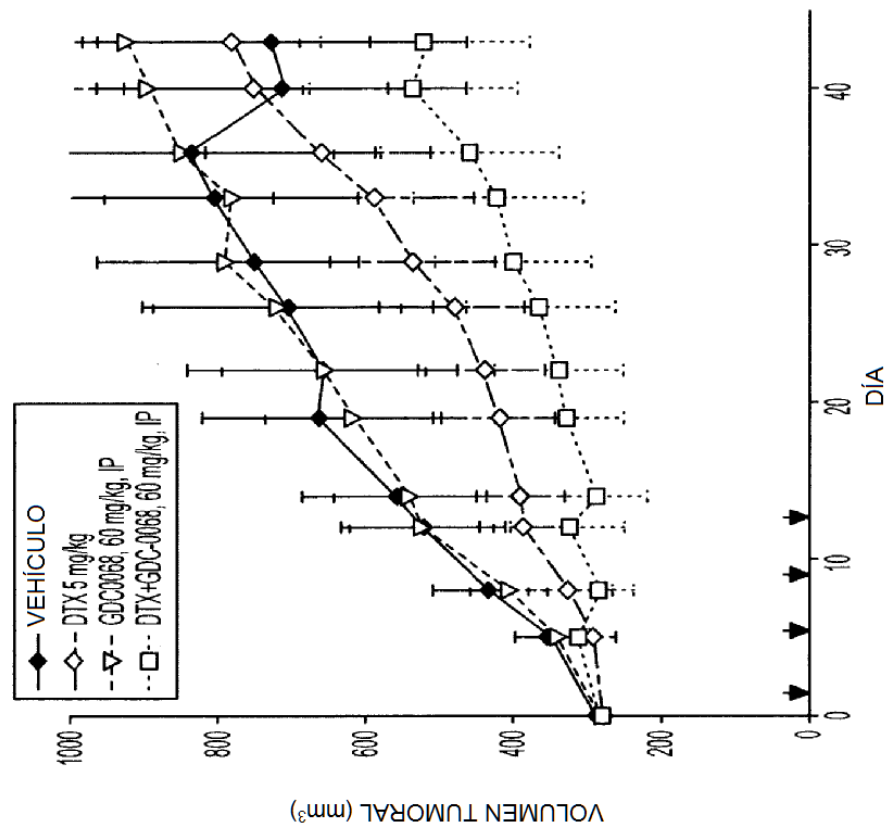


FIG. 4A

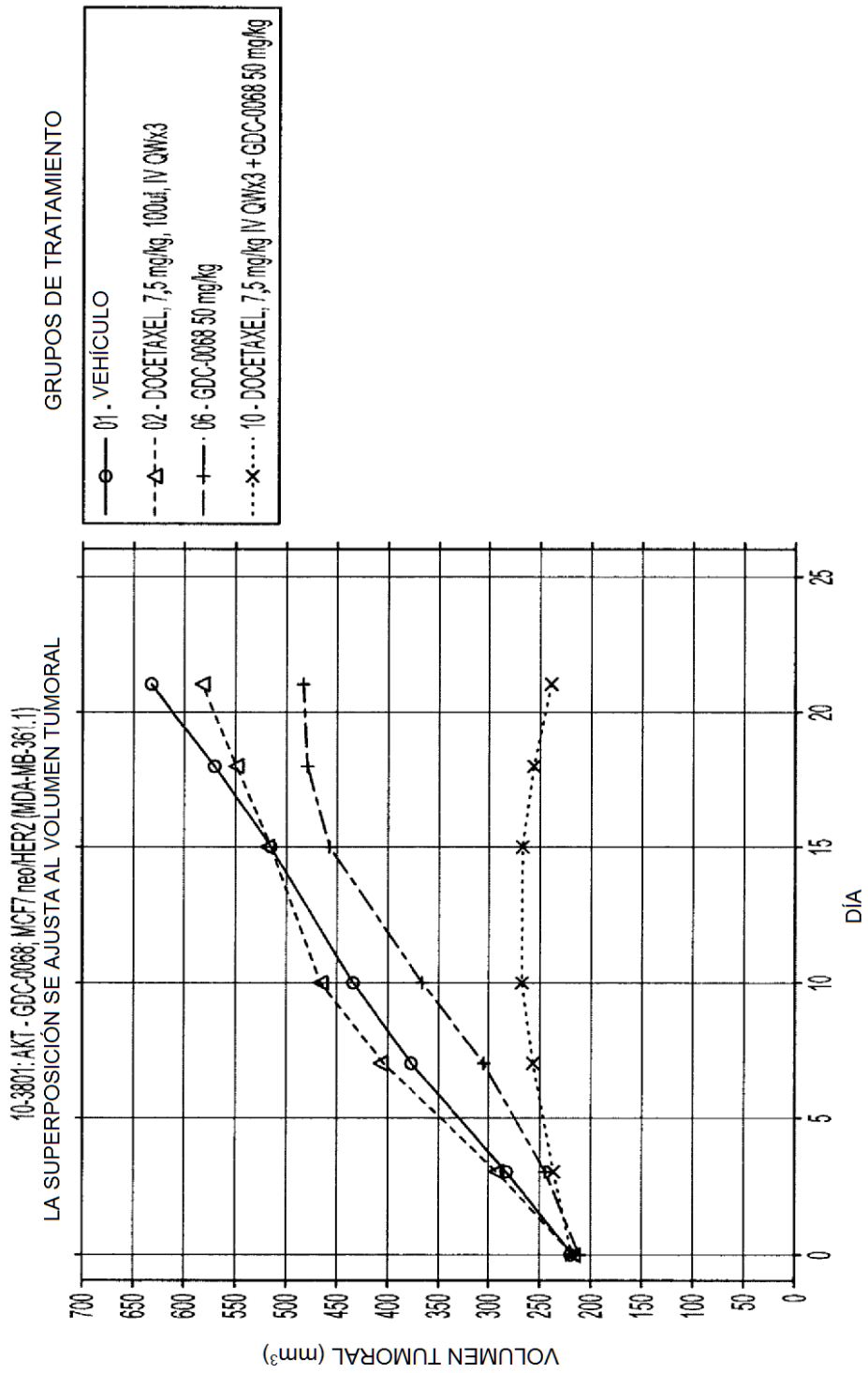


FIG. 5

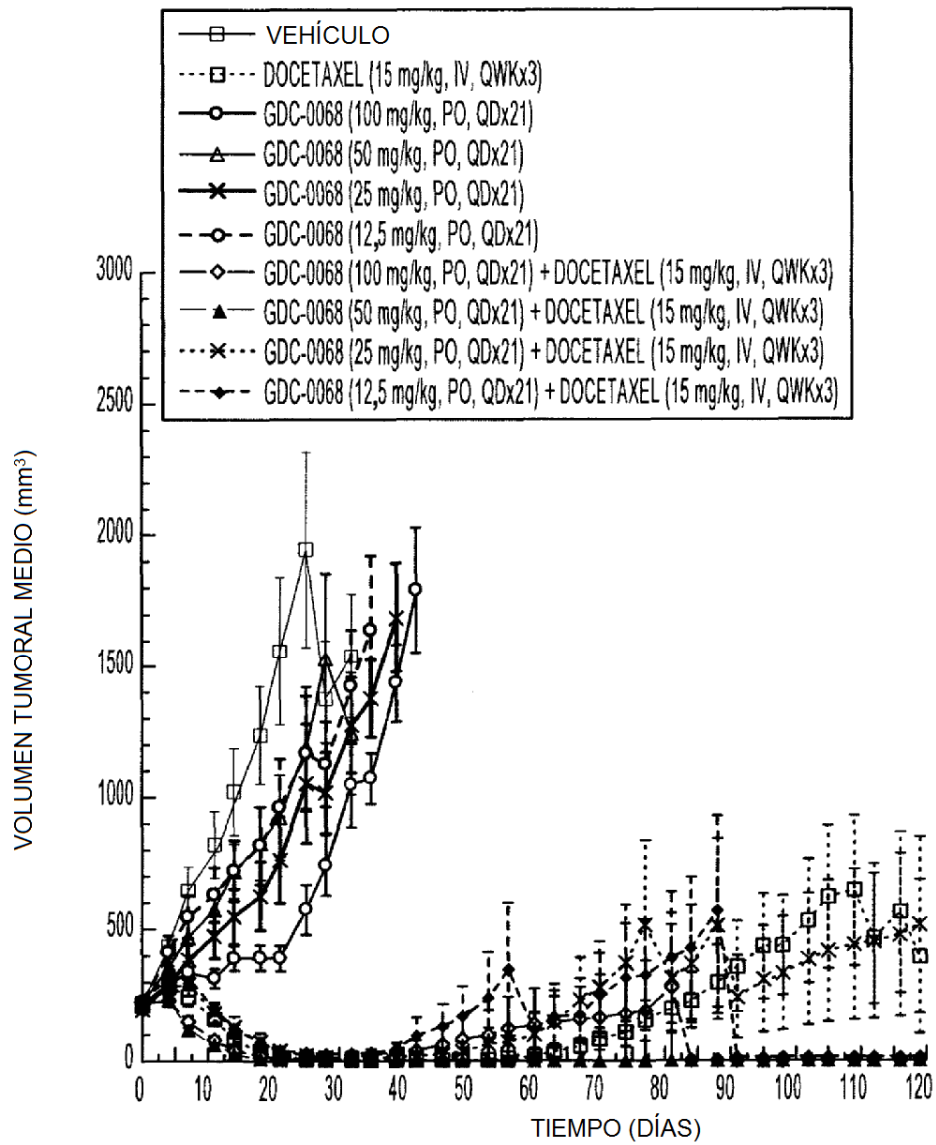


FIG. 6

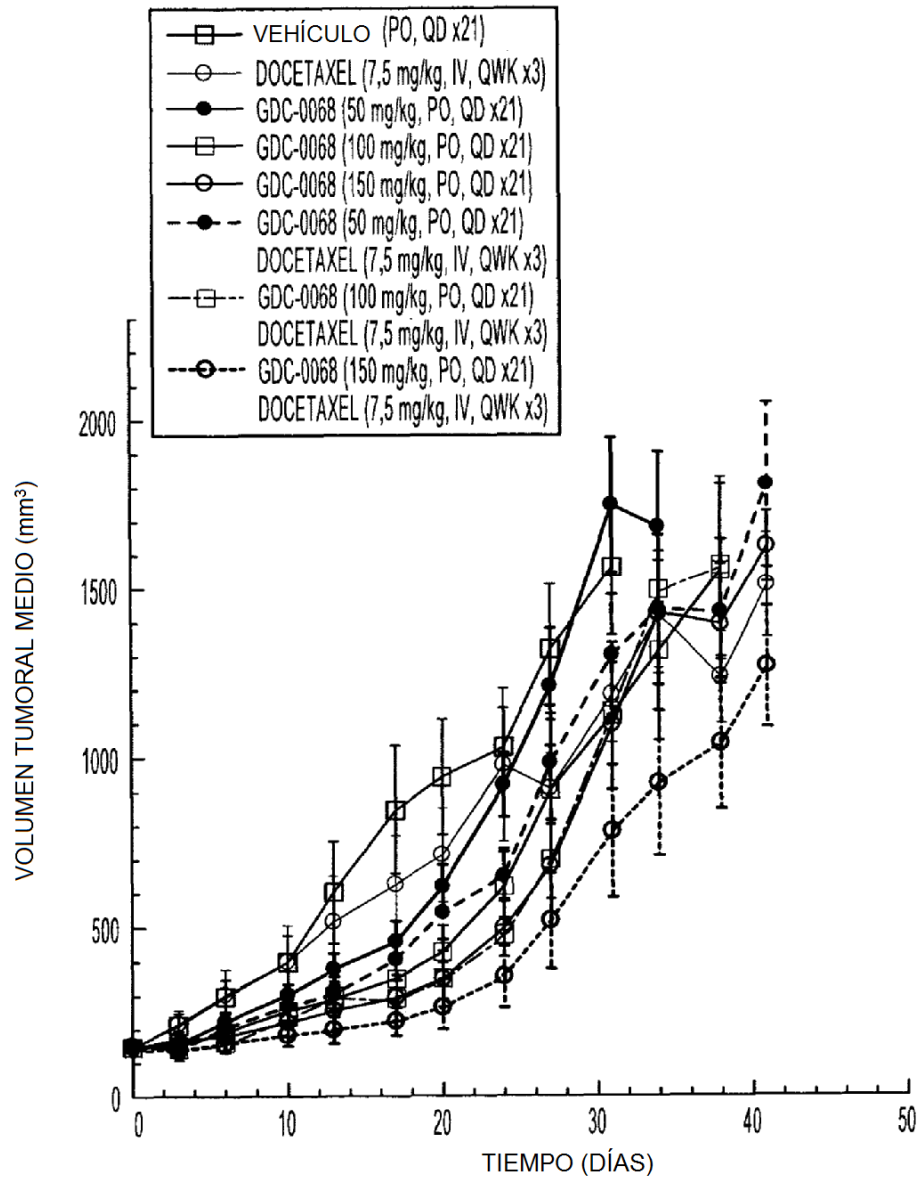


FIG. 7

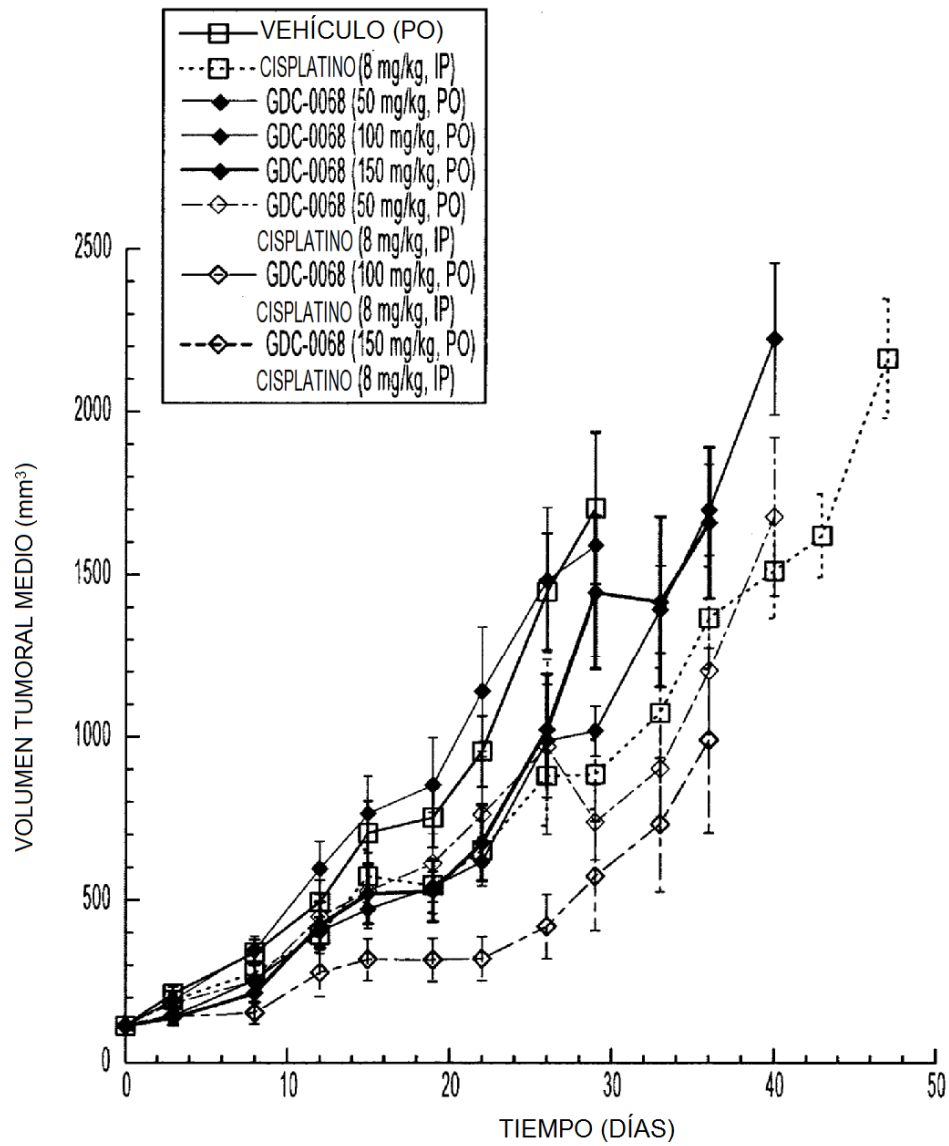


FIG. 8

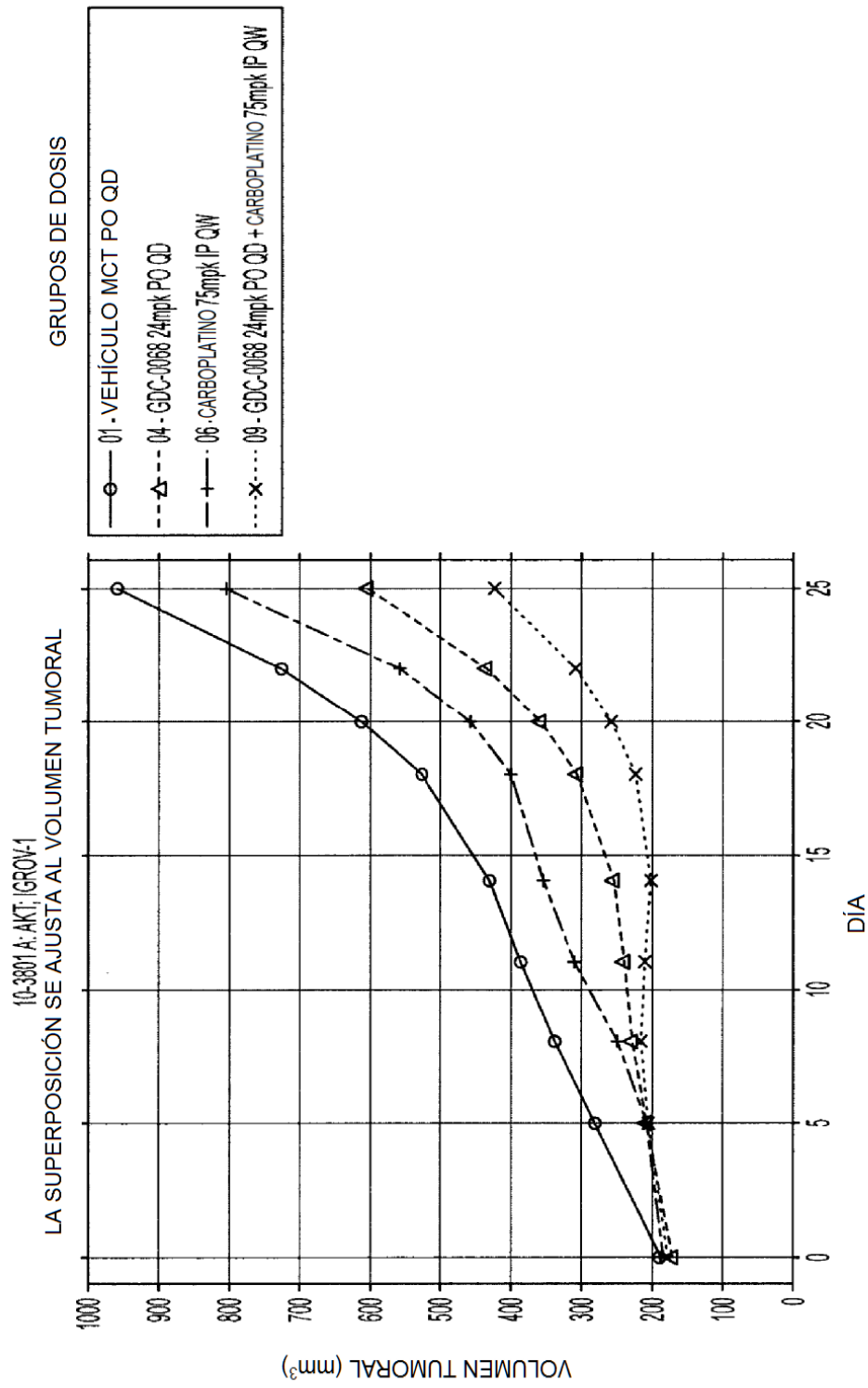


FIG. 9

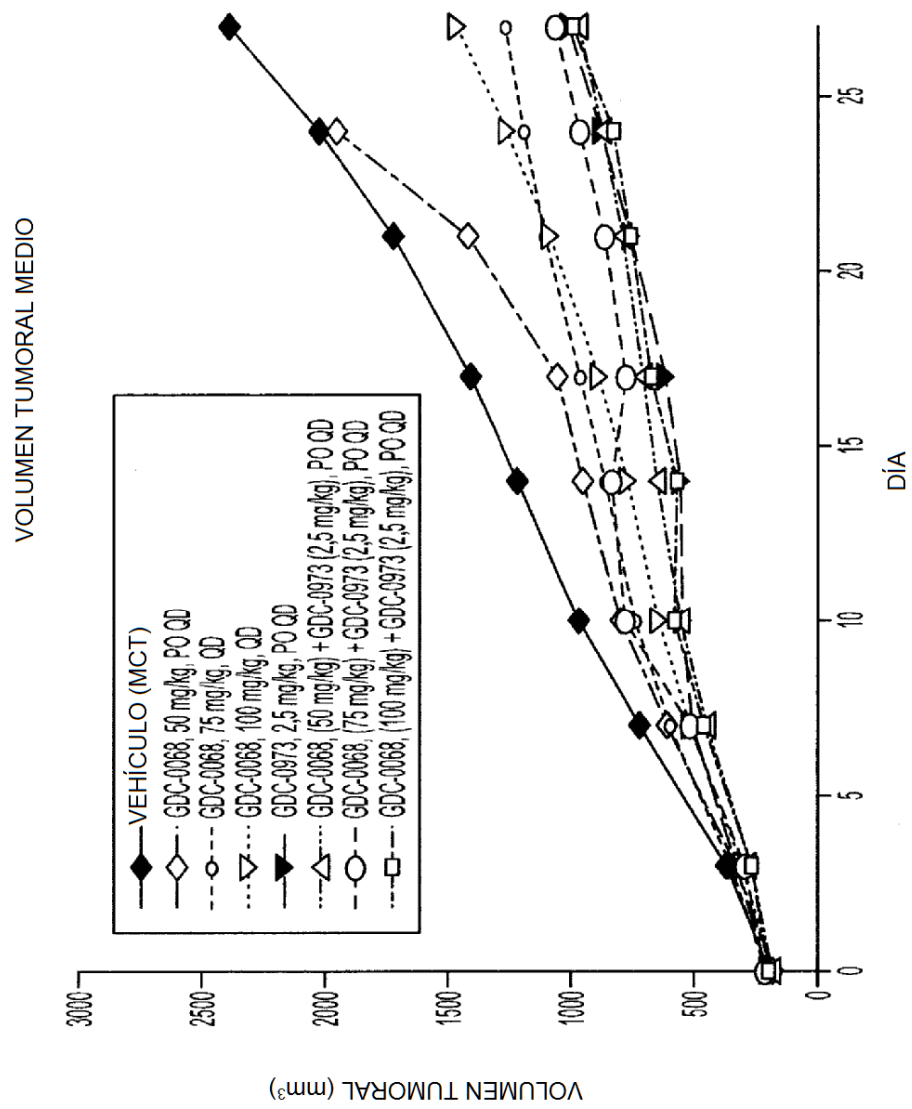


FIG. 10A

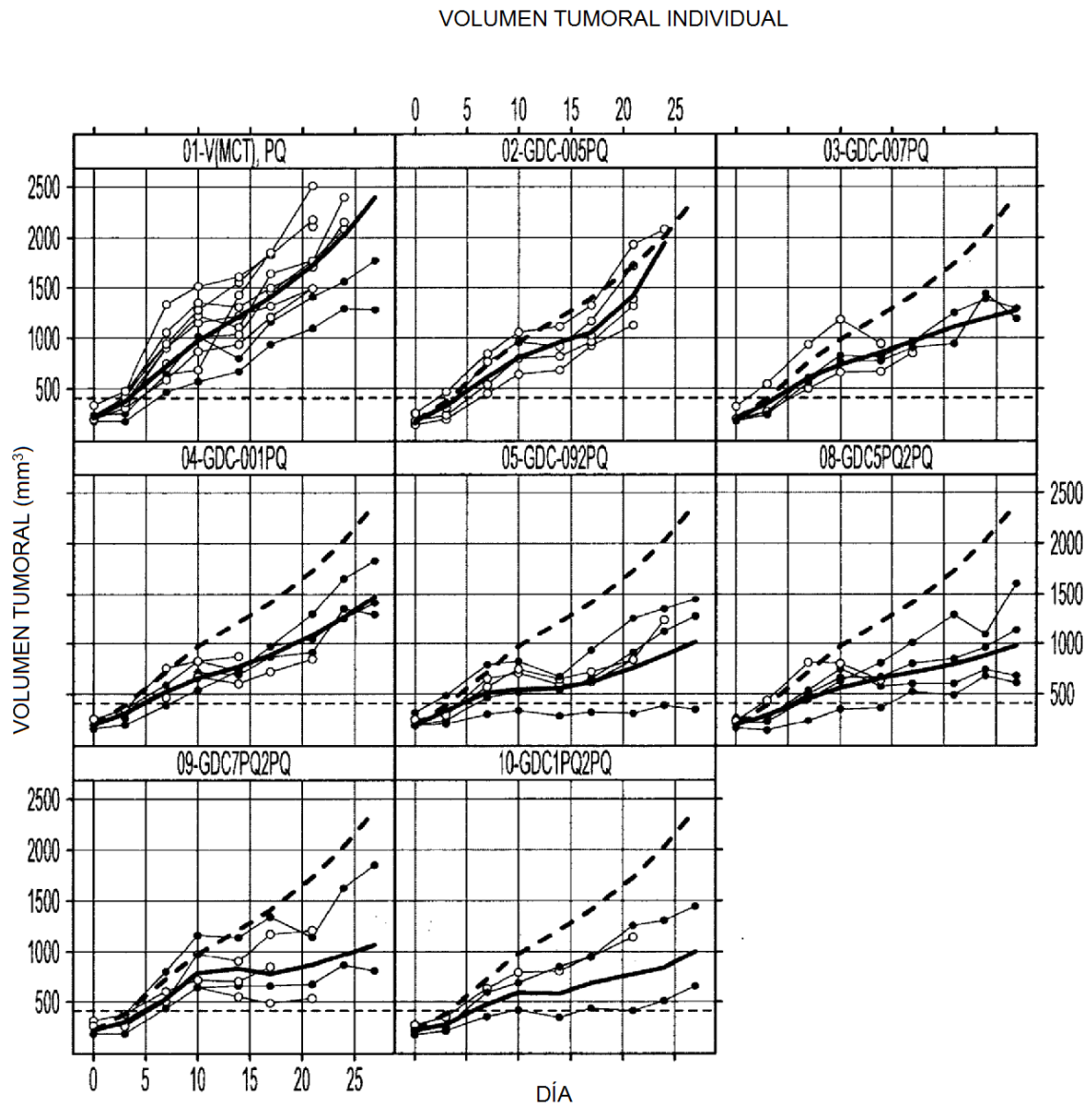


FIG. 10B

AGENTE DE PRUEBA	VIA	PROGRAMA	DOSIS (mg/kg)	DIA 0 (n)	ULTIMO DIA	ULTIMO DIA (n)	ULTIMO DIA (VOLUMEN)	% DE ICT (INFERIOR, SUPERIOR)	TTP2X	TTP5X	PR	CR	STI
VEHICULO (MCT)	P0	QD	0+0	10	21	10	1715	0 (0,0)	4	11,5	0	0	10
GDC-0068	P0	QD	50+0	5	21	5	1457	22 (-2,45)	4,5	17	0	0	5
GDC-0068	P0	QD	75+0	5	21	2	1047	36 (6,56)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068	P0	QD	100+0	5	21	4	1053	41 (14,60)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0073	P0	QD	0+2,5	5	21	5	747	60 (41,73)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0073	P0	QD	0+5	5	21	5	949	40 (15,68)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0073	P0	QD	0+7,5	5	21	5	862	45 (20,62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	50+2,5	5	21	4	786	55 (32,69)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	75+2,5	5	21	4	792	43 (15,61)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	100+2,5	5	21	3	750	59 (37,74)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	50+5	5	21	4	879	43 (17,62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	75+5	5	21	4	641	68 (52,80)	7,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	100+5	5	21	1	635	78 (61,90)	9,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	50+7,5	5	21	4	577	74 (60,83)	8	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	75+7,5	5	21	2	405	85 (74,93)	NA	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0073	P0	QD	100+7,5	5	21	2	635	68 (46,82)	8	NA	0	0	5

FIG. 10C

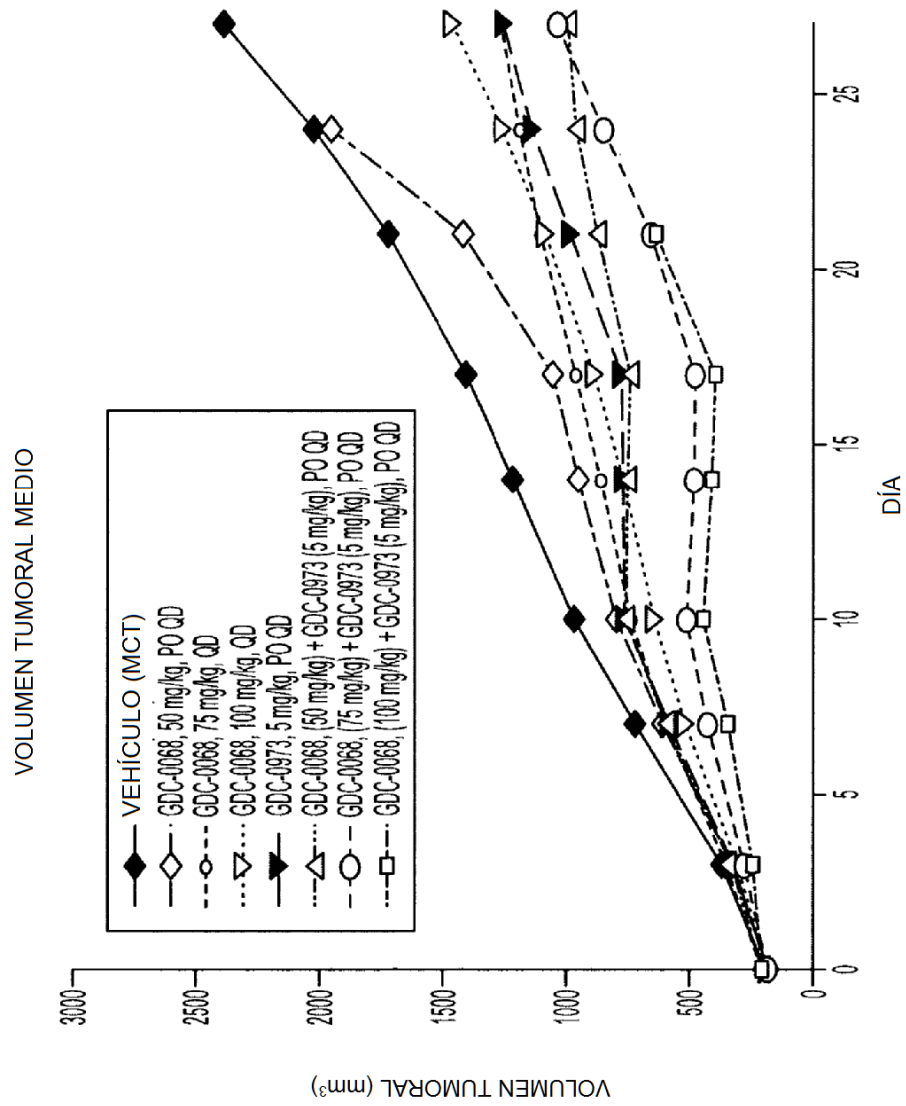


FIG. 11A

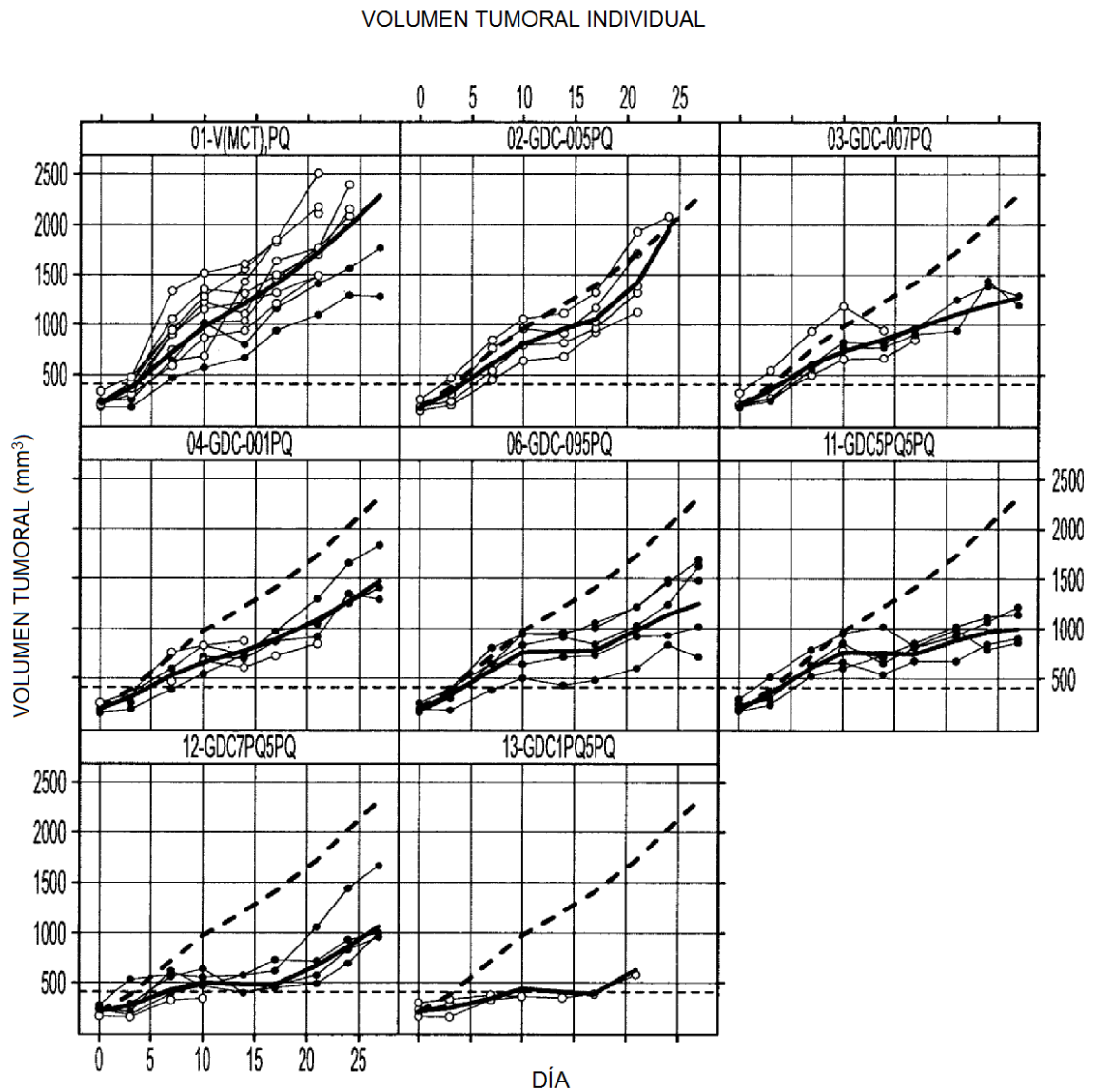


FIG. 11B

AGENTE DE PRUEBA	VÍA	PROGRAMA	DOSIS (mg/kg)	DÍA 0 (n)	ULTIMO DÍA	ULTIMO DÍA (n)	ULTIMO DÍA (VOLUMEN)	% DE ICT (INFERIOR, SUPERIOR)	TP2X	TP5X	PR	CR	STI
VEHICULO (MCT)	PO	QD	0 + 0	10	21	10	1715	0 (0, 0)	4	11,5	0	0	10
GDC-0068	PO	QD	50 + 0	5	21	5	1457	22 (-12, 45)	4,5	17	0	0	5
GDC-0068	PO	QD	75 + 0	5	21	2	1047	36 (6, 56)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068	PO	QD	100 + 0	5	21	4	1053	41 (14, 60)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 2,5	5	21	5	747	60 (41, 73)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 5	5	21	5	949	40 (15, 58)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 7,5	5	21	5	862	45 (20, 62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 2,5	5	21	4	786	55 (32, 69)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 2,5	5	21	4	792	43 (15, 61)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 2,5	5	21	3	750	59 (37, 74)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 5	5	21	4	879	43 (17, 62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 5	5	21	4	641	68 (52, 80)	7,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 5	5	21	1	635	78 (61, 90)	9,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 7,5	5	21	4	577	74 (60, 83)	8	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 7,5	5	21	2	405	85 (74, 93)	NA	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 7,5	5	21	2	635	68 (46, 82)	8	NA	0	0	5

FIG. 11C

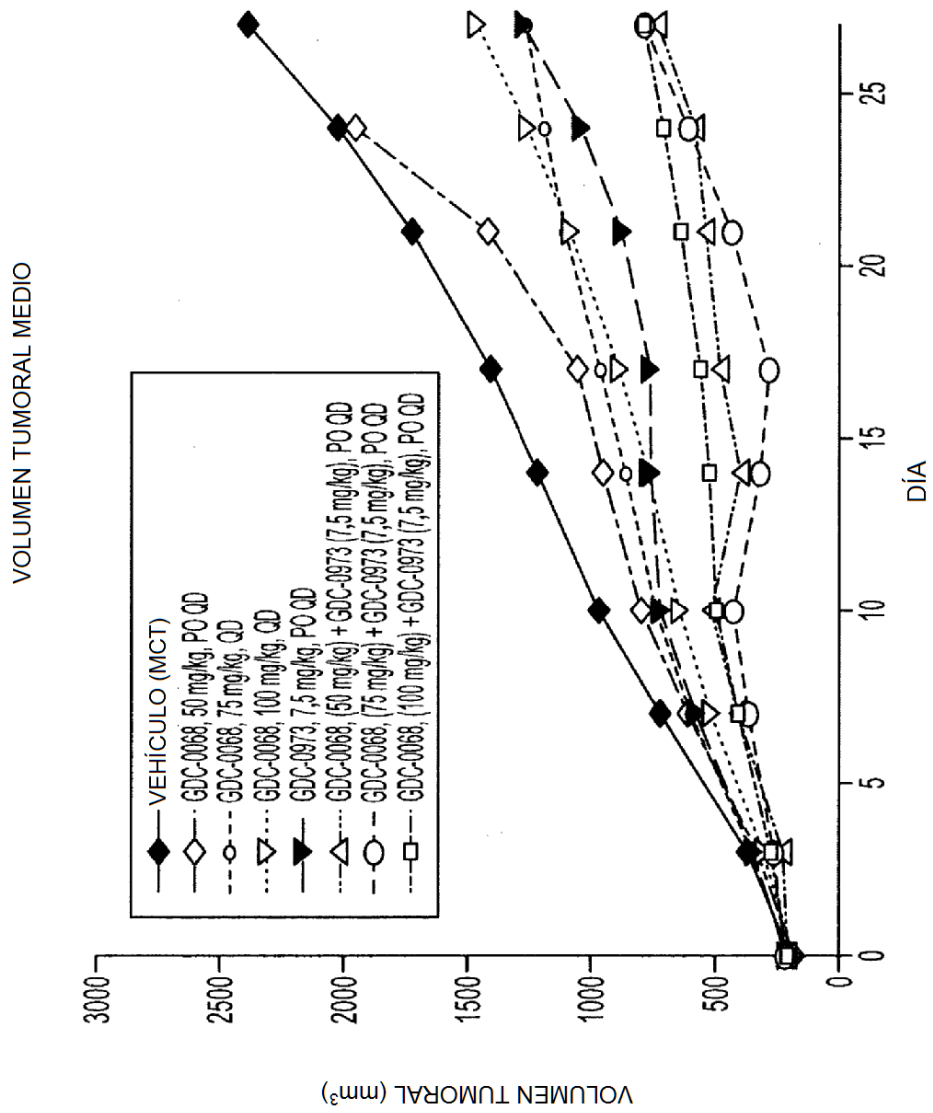


FIG. 12A

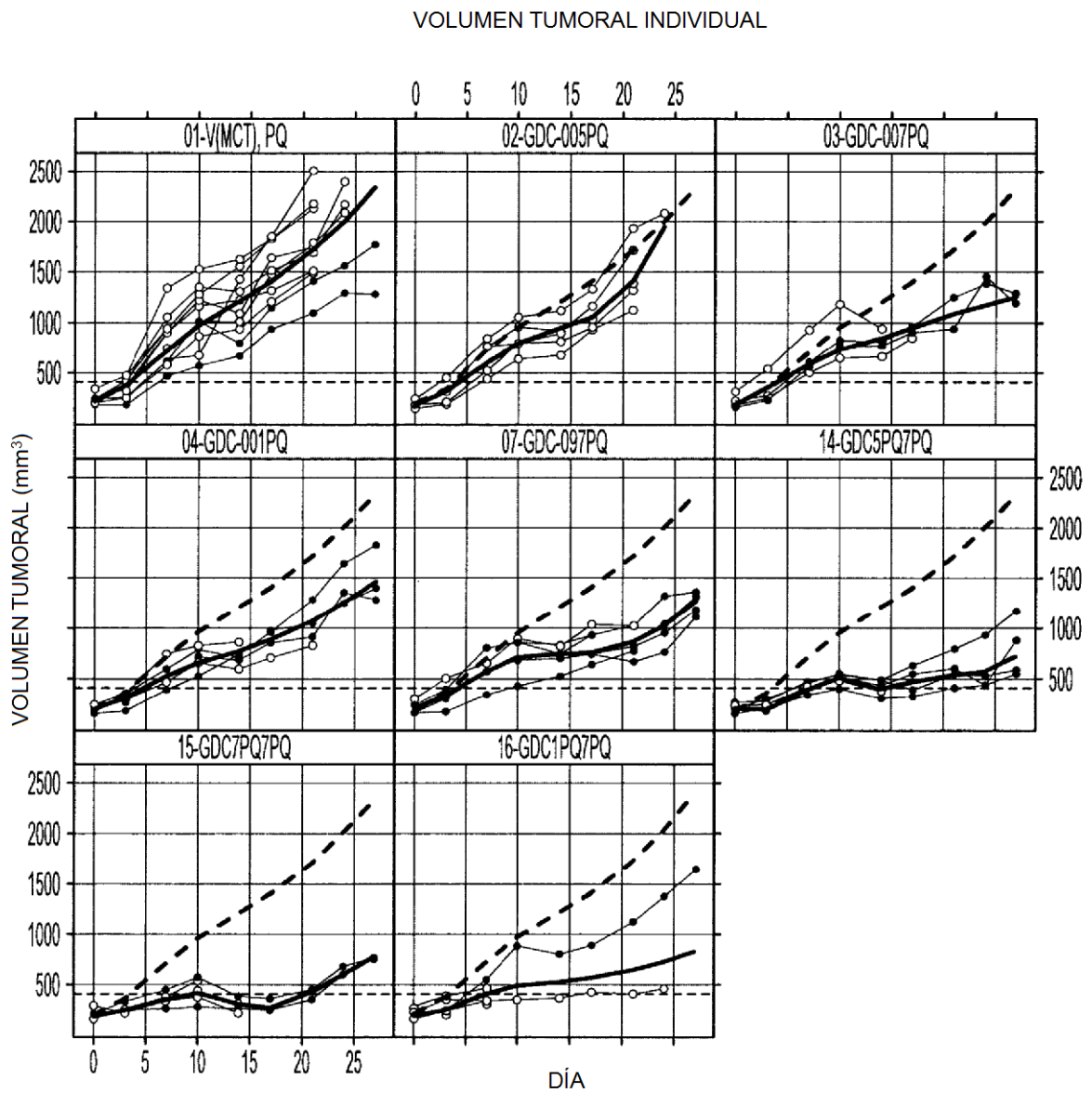


FIG. 12B

AGENTE DE PRUEBA	VÍA	PROGRAMA	DOSIS (mg/kg)	DÍA 0 (n)	ÚLTIMO DÍA	ÚLTIMO DÍA (n)	ÚLTIMO DÍA (VOLUMEN)	% DE ICT (INFERIOR, SUPERIOR)	TTP2X	TTP5X	PR	CR	STI
VEHICULO (MCT)	PO	QD	0 + 0	10	21	10	1715	0 (0, 0)	4	11,5	0	0	10
GDC-0068	PO	QD	50 + 0	5	21	5	1457	22 (-12, 45)	4,5	17	0	0	5
GDC-0068	PO	QD	75 + 0	5	21	2	1047	36 (6, 56)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068	PO	QD	100 + 0	5	21	4	1053	41 (14, 60)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 2,5	5	21	5	747	60 (41, 73)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 5	5	21	5	949	40 (15, 58)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0973	PO	QD	0 + 7,5	5	21	5	862	45 (20, 62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 2,5	5	21	4	786	55 (32, 69)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 2,5	5	21	4	792	43 (15, 61)	5,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 2,5	5	21	3	750	59 (37, 74)	6,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 5	5	21	4	879	43 (17, 62)	4,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 5	5	21	4	641	68 (52, 80)	7,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 5	5	21	1	635	78 (61, 90)	9,5	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	50 + 7,5	5	21	4	577	74 (60, 83)	8	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	75 + 7,5	5	21	2	405	85 (74, 93)	NA	NA	0	0	5
GDC-0068+GDC-0973	PO	QD	100 + 7,5	5	21	2	635	68 (46, 82)	8	NA	0	0	5

FIG. 12C

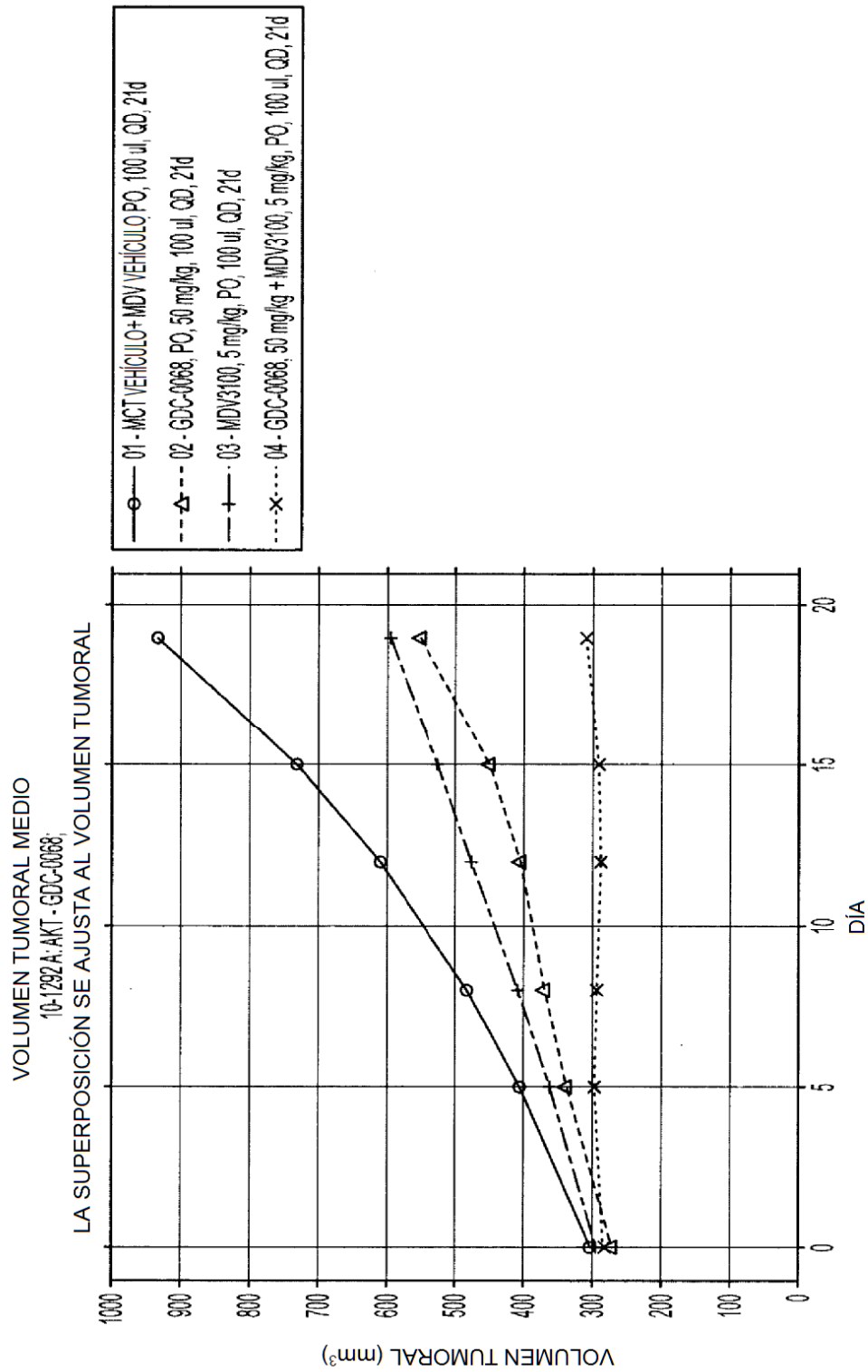


FIG. 13A

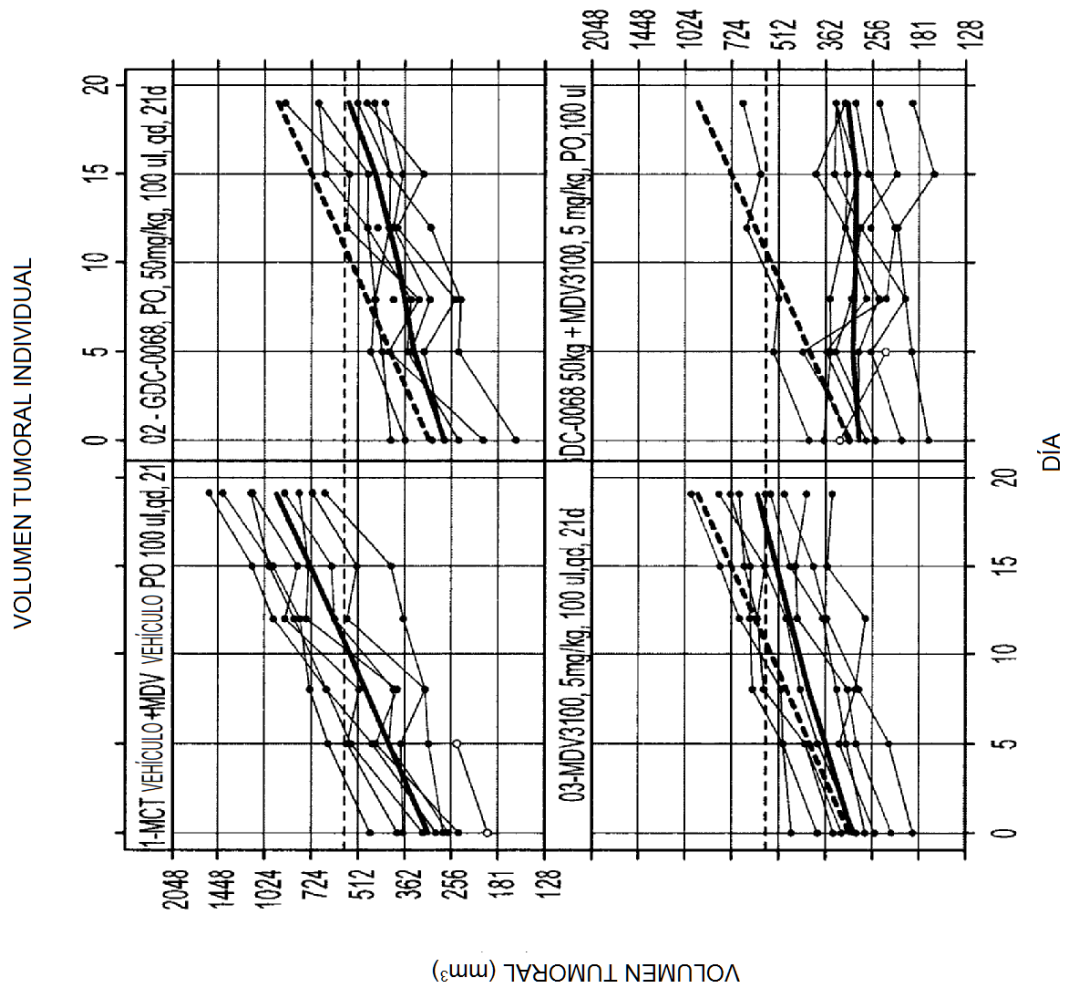


FIG. 13B

AGENTE DE PRUEBA	VIA	PROGRAMA	DOSIS (mg/kg)	DÍA 0 (n)	ÚLTIMO DÍA	ÚLTIMO DÍA (n)	DÍA 18 (VOLUMEN)	% DE ICT (INFERIOR, SUPERIOR)	TP2X	PR	CR
MCT + MDV3100 VEHICULO	PO/PO	QD+QD	0	9	21	8	935	0 (0, 0)	11	0	0
GDC-0068	PO	QD	50	9	21	9	553	54 (19, 82)	NA	0	0
MDV3100	PO	QD	5	9	21	9	596	43 (0, 72)	17.5	0	0
EJEMPLO 2 + MDV3100	PO/PO	QD+QD	50+5	9	21	8	309	95 (73, 115)	NA	0	0

FIG. 13C

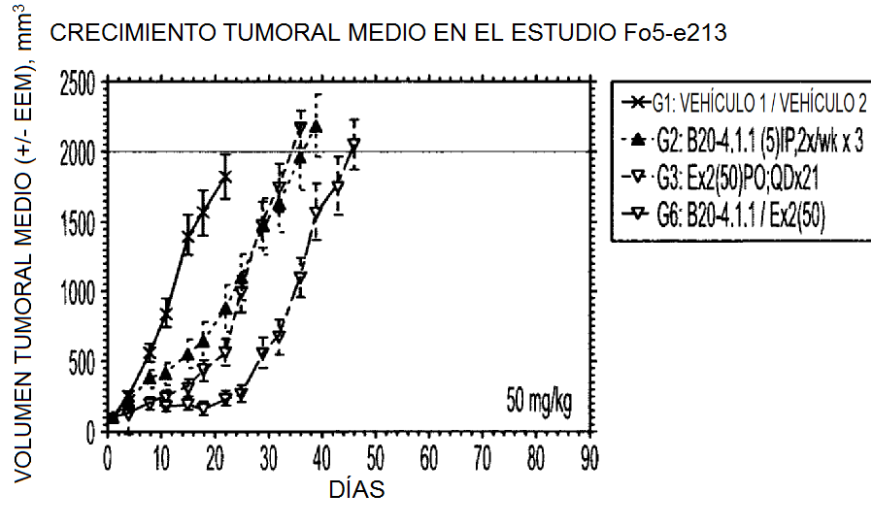


FIG. 14A

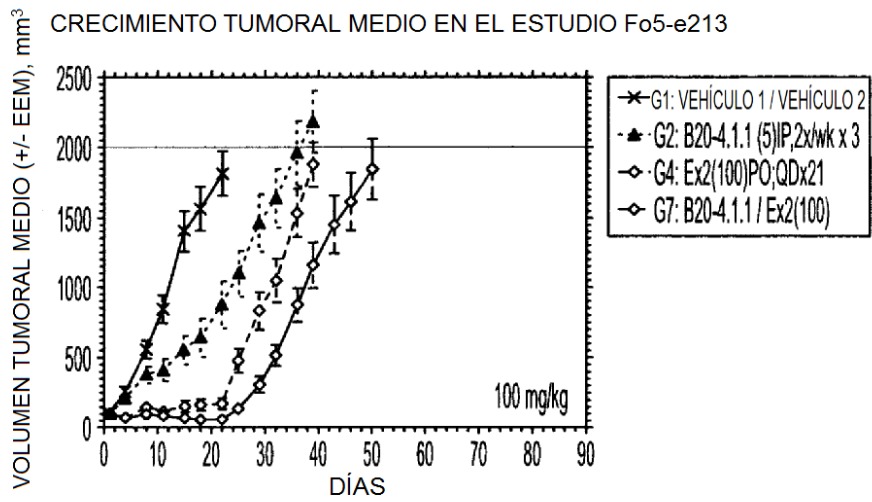


FIG. 14B

REPRESENTACIÓN DE KAPLAN-MEIER PARA EL ESTUDIO Fo5-e213

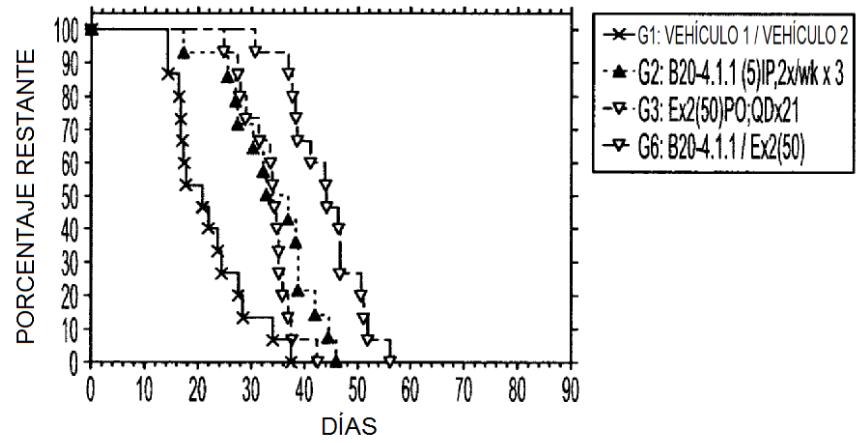


FIG. 14C

REPRESENTACIÓN DE KAPLAN-MEIER PARA EL ESTUDIO Fo5-e213

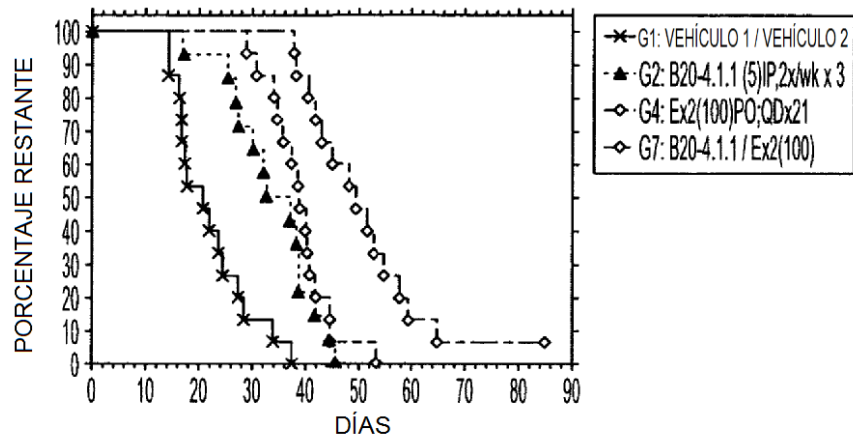


FIG. 14D

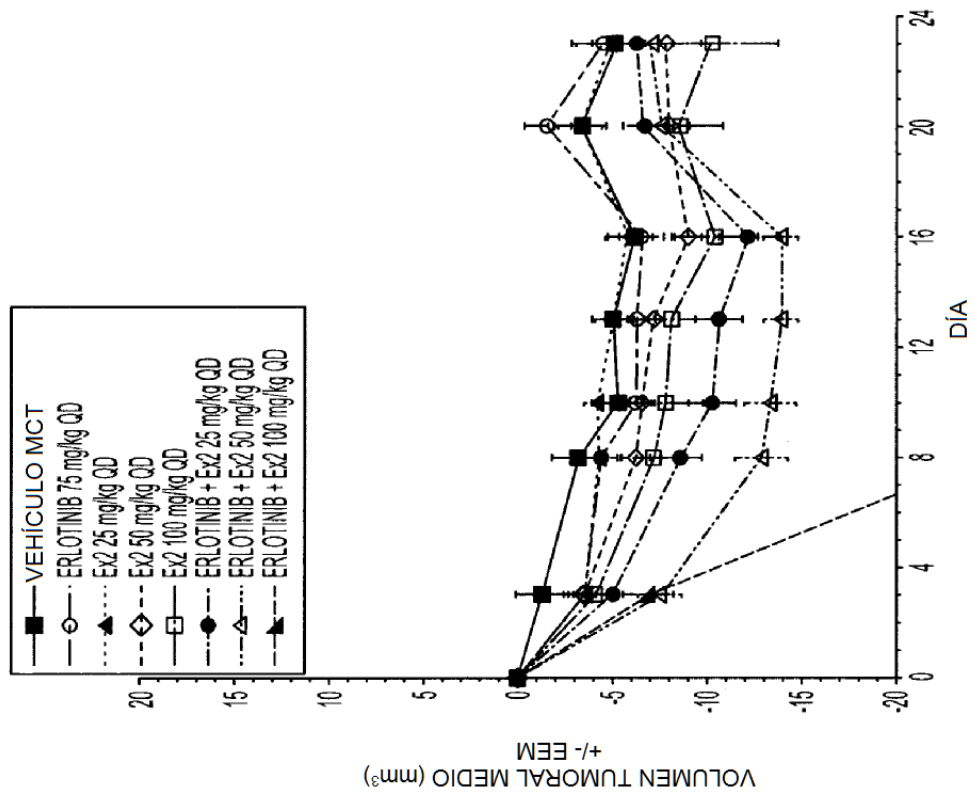


FIG. 15B

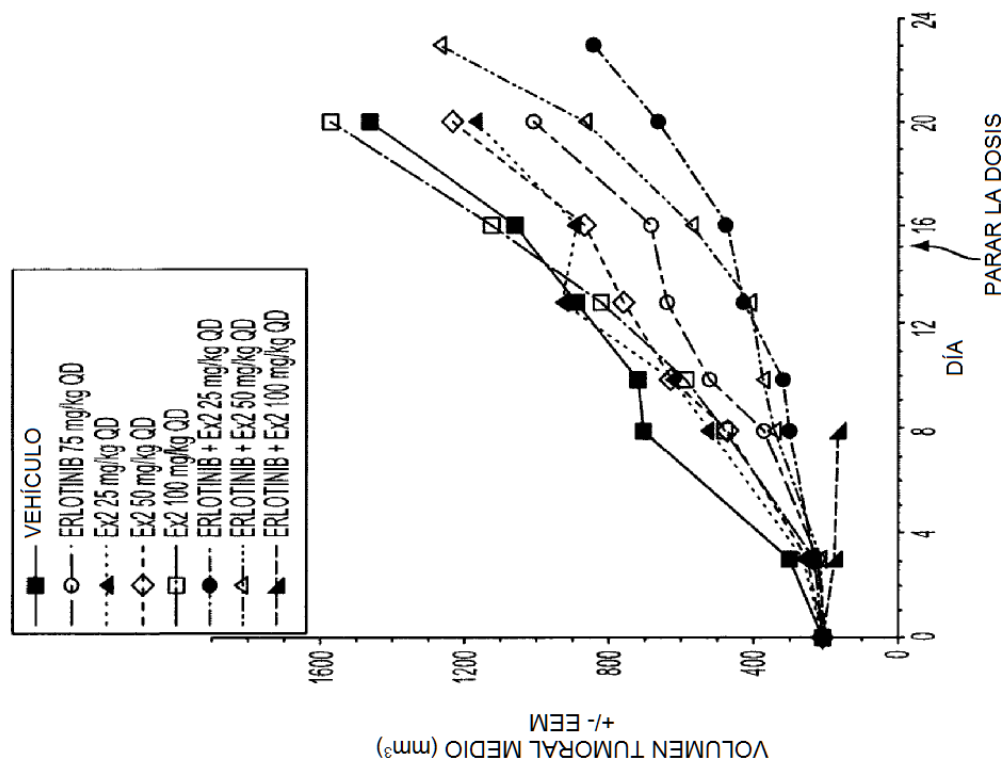


FIG. 15A

RESUMEN DE VALORES DE CI DE CONJUNTO

LÍNEA CELULAR	TIPO DE TUMOR	MUTACIONES GÉNICAS	QUIMIOTERAPÉUTICO	CE50 DE QUIMIO	CE50 DE GDC-0068	¿SINERGIA?	CE50 DE CI DE GDC-0068
BT549	MAMA	PTEN NEG, KRAS	5-FU	>40	>2,5	NO	0,83
CAL-51	MAMA	P13K E542K, PTEN NEG	5-FU	>40	0,29	SÍ	0,6
CAL-51X1.1	MAMA		5-FU	8	0,6	SÍ	0,65
CAL-120	MAMA		5-FU	>40	>2,5	SÍ	0,61
HCC1954	MAMA	P13K H1047R	5-FU	>40	0,9	NO	0,7
MDA-MB-361	MAMA	P13K E545K	5-FU	>40	>2,5	SÍ	0,27
MCF7	MAMA	P13K E545K	5-FU	7,8	>2,5	SÍ	0,5
MCF7(PRC)	MAMA		5-FU	7,8	>2,5	SÍ	0,34
MDA-MB-468	MAMA	P13K C769G T435I, PTEN NEG	5-FU	20	>2,5	NO	1,24
ZR-75-1	MAMA	PTEN NEG	5-FU	20	>2,5	SÍ	0,37
U87(PRC)	GLIOMA		5-FU	12	>2,5	SÍ	0,3
H2122	PULMÓN	KRAS G12C	5-FU	0,35	>2,5	NO	0,85
KRP1	LÍNEA DE RATÓN		5-FU	0,9	>2,5	¿SÍ?	0,6777
IGROV1	OVARIO	P13K O1069W	5-FU	15,6	0,56	SÍ	0,56
ZZR1	PRÓSTATA	P13K Q546R, B-RAF L597R	5-FU	0,625	>2,5	NO	1,05
PC3(GNE)	PRÓSTATA	PTEN NEG, P13K N936H	5-FU	>40	2,2	NO	0,84
MCF7(PRC)	MAMA		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	SÍ	0,49
MDA-MB-361	MAMA	P13K E545K	CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	SÍ	0,19
U87(PRC)	GLIOMA		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	0,72

A FIG. 16B

FIG. 16A

DE FIG. 16A

A549(GNE)	PULMON	PI3K M772X N986H, KRAS G12S	CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	SI	0,51
A549(PRC)	PULMON		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	SI	0,66
H1299(PRC)	PULMON		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	0,77
H2122	PULMON	KRAS G12C	CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	0,87
A375(PRC)	MELANOMA	V600E de B-RAF EN LA LÍNEA GNE	CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	0,84
IGROV1	OVARIO	PI3K C1089W	CARBOPLATINO	>12,5	0,56	NO	1,2
SKOV3(PRC)	OVARIO		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	1,09
PC3(GNE)	PRÓSTATA	PTEN NEG, PI3K N986H	CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	SI	0,69
PC3(PRC)	PRÓSTATA		CARBOPLATINO	>12,5	>2,5	NO	0,95
KM12	COLON	PTEN NEG	CPT-11	>2,5	>2,5	SI	0,57
WDR	COLON		CPT-11	>2,5	>2,5	SI	0,54
BT549	MAMA	PTEN NEG, K-RAS	DOCETAXEL	0,002	>2,5	SI	0,47
CAL-51	MAMA	PI3K E542K, PTEN NEG	DOCETAXEL	0,003	0,29	SI	0,54
CAL-51X1.1	MAMA		DOCETAXEL	0,009	0,6	SI	0,58
CAL120	MAMA		DOCETAXEL	0,02	>2,5	SI	0,4
HCC1954	MAMA	PI3K H1047R	DOCETAXEL	0,004	0,9	SI	0,48
MCF7	MAMA	PI3K E545K	DOCETAXEL	0,005	>2,5	SI	0,43
MCF7(PRC)	MAMA		DOCETAXEL	0,005	>2,5	SI	0,47
MDA-MB-361	MAMA	PI3K E545K	DOCETAXEL	0,003	>2,5	SI	0,24
MDA-MB468	MAMA	PI3K C769G T436I, PTEN NEG	DOCETAXEL	0,005	>2,5	NO	0,73

A FIG. 16C

FIG. 16B

DE FIG. 16B

ZR-75-1	MAMA	PTEN NEG	DOCETAXEL	0,0025	>2,5	SI	0,52
U87(ARRAY)	GLIOMA		DOCETAXEL	0,0625	>2,5	SI	0,17
U87(ARRAY)	GLIOMA		DOCETAXEL	0,009	>2,5	SI	0,2
U87(GNE)	GLIOMA	PI3K I397M, PTEN NEG	DOCETAXEL	0,00625	>2,5	SI	0,47
U87(GNE)	GLIOMA	PI3K I397M, PTEN NEG	DOCETAXEL	0,009	>2,5	SI	0,35
U87(PRC)	GLIOMA		DOCETAXEL	0,009	>2,5	SI	0,32
U87(PRC)	GLIOMA		DOCETAXEL	0,00625	>2,5	SI	0,42
U87(PRC)	GLIOMA		DOCETAXEL	0,009	>2,5	SI	0,25
A549(GNE)	PULMÓN	PI3K M772X N996H, KRAS G12S	DOCETAXEL	0,0025	>2,5	SI	0,59
A549(PRC)	PULMÓN		DOCETAXEL	0,0025	>2,5	SI	0,39
H1289(PRC)	PULMÓN		DOCETAXEL	0,025	>2,5	NO	0,72
H2122	PULMÓN	KRAS G12C	DOCETAXEL	0,01	>2,5	¿NO/SI?	0,71(0,54)
A375(PRC)	MELANOMA		DOCETAXEL	0,0025	>2,5	SI	0,64
IGROV1	OVARIO	PI3K O1069W	DOCETAXEL	0,00392	0,56	SI	0,54
SKOV3(PRC)	OVARIO		DOCETAXEL	0,005	>2,5	NO	0,79
22RV1	PRÓSTATA	PI3K Q546R, B-RAF L597R	DOCETAXEL	0,005	>2,5	SI	0,64
PC3(GNE)	PRÓSTATA	PTEN NEG, PI3K N996H	DOCETAXEL	0,0052	1,09	SI	0,44(0,66)
PC3(PRC)	PRÓSTATA		DOCETAXEL	0,0025	>2,5	SI	0,55
MCF7(PRC)	MAMA		DOXORUBICINA	0,2	>2,5	SI	0,35
U87(PRC)	GLIOMA		DOXORUBICINA	0,15	>2,5	NO	0,92

A FIG. 16D

FIG. 16C

DE FIG. 16C

A549(GNE)	PULMÓN	P13K M772X N999H, KRAS G12S	DOXORUBICINA	0,2	>2,5	SI	0,48
A549(PRC)	PULMÓN		DOXORUBICINA	0,2	>2,5	SI	0,67
H1299(PRC)	PULMÓN		DOXORUBICINA	0,2	>2,5	NO	0,8
H2122	PULMÓN	KRAS G12C	DOXORUBICINA	0,01	>2,5	NO	0,9
A375(PRC)	MELANOMA		DOXORUBICINA	0,03	>2,5	NO	0,72
EFO21	OVARIO	PTEN NEG, BRAF H457N	DOXORUBICINA	0,12	0,3	NO	0,91
SKOV3	OVARIO	P13K H1047R	DOXORUBICINA	0,3	>2,5	SI	0,67
SKOV3(PRC)	OVARIO		DOXORUBICINA	0,07	>2,5	NO	0,87
PC3(GNE)	PRÓSTATA	PTEN NEG, P13K N999H	DOXORUBICINA	0,4	>2,5	NO	0,74
PC3(PRC)	PRÓSTATA		DOXORUBICINA	0,4	>2,5	SI	0,38
BT549	MAMA	PTEN NEG, KRAS	GEMCITABINA	0,012	>2,5	NO	0,73
CAL-51	MAMA	P13K E542X, PTEN NEG	GEMCITABINA	0,0024	0,29	NO	0,87
CAL-51X1.1	MAMA		GEMCITABINA	0,00625	0,6	SI	0,47
CAL120	MAMA		GEMCITABINA	0,7	>2,5	SI	0,12
HCC1954	MAMA	P13K H1047R	GEMCITABINA	0,005	0,9	SI	0,61
MCF7	MAMA	P13K E545K	GEMCITABINA	0,005	>2,5	SI	0,42
MCF7(PRC)	MAMA		GEMCITABINA	0,00625	>2,5	SI	0,44
MDA-MB-361	MAMA	P13K E545K	GEMCITABINA	0,012	>2,5	SI	0,19
MDA-MB468	MAMA	P13K C769G T435I, PTEN NEG	GEMCITABINA	0,0025	>2,5	NO	1,14

A FIG. 16E

FIG. 16D

DE FIG. 16D

ZR75-1	MAMA	PTEN NEG	GEMCITABINA	0,01	>2,5	SI	0,42
U87(PRC)	GLIOMA		GEMCITABINA	0,00625	>2,5	SI	0,3
A549(GNE)	PULMÓN	PI3K M772X N996H, KRAS G12S	GEMCITABINA	0,01	>2,5	SI	0,38
A549(PRC)	PULMÓN		GEMCITABINA	0,01	>2,5	SI	0,35
H2122	PULMÓN	KRAS G12C	GEMCITABINA	0,0027	>2,5	NO	0,7
KPP1	LÍNEA DE RATÓN		GEMCITABINA	0,017	>2,5	NO	1,04
IGROV1	OVARIO	PI3K C1069W	GEMCITABINA	0,0088	0,56	NO	0,92
SKOV3	OVARIO	PI3K H1047R	GEMCITABINA	0,05	>2,5	NO	0,97
22RV1	PRÓSTATA	PI3K Q546R, B-RAF L597R	GEMCITABINA	0,005	>2,5	SI	0,54
PC3(GNE)	PRÓSTATA	PTEN NEG, PI3K N996H	GEMCITABINA	0,125	>2,5	SI	0,67
PC3(PRC)	PRÓSTATA		GEMCITABINA	0,0125	>2,5	SI	0,34
COLO205	COLON	B-RAF V600E	SN38	0,012	>2,5	SI	0,55
HCT116	COLON	PI3K H1047R	SN38	0,024	>2,5	SI	0,48
HT29	COLON	B-RAF V600E	SN38	0,04	>2,5	NO	0,93
G140	GLIOMA	PTEN NEG	TEMODAR	>10	>2,5	NO	0,73
G61	GLIOMA		TEMODAR	>10	>2,5	SI	0,55
U87(GNE)	GLIOMA	PI3K I397M, PTEN NEG	TEMODAR	>10	>2,5	SI	0,31
LOX	MELANOMA	B-RAF V600E	TEMODAR	>10	>2,5	NO	0,93

FIG. 16E

GÁSTRICO

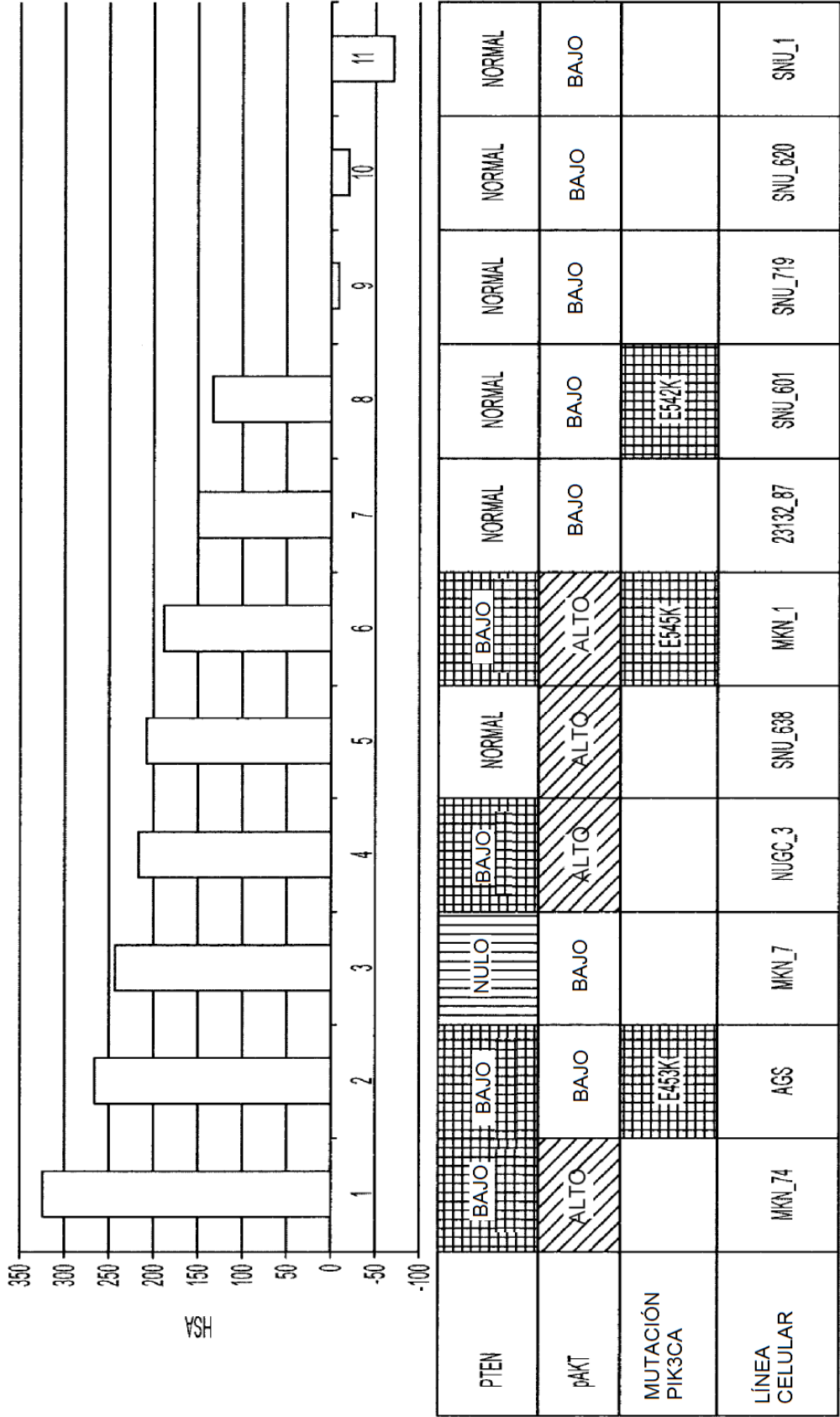


FIG. 17A

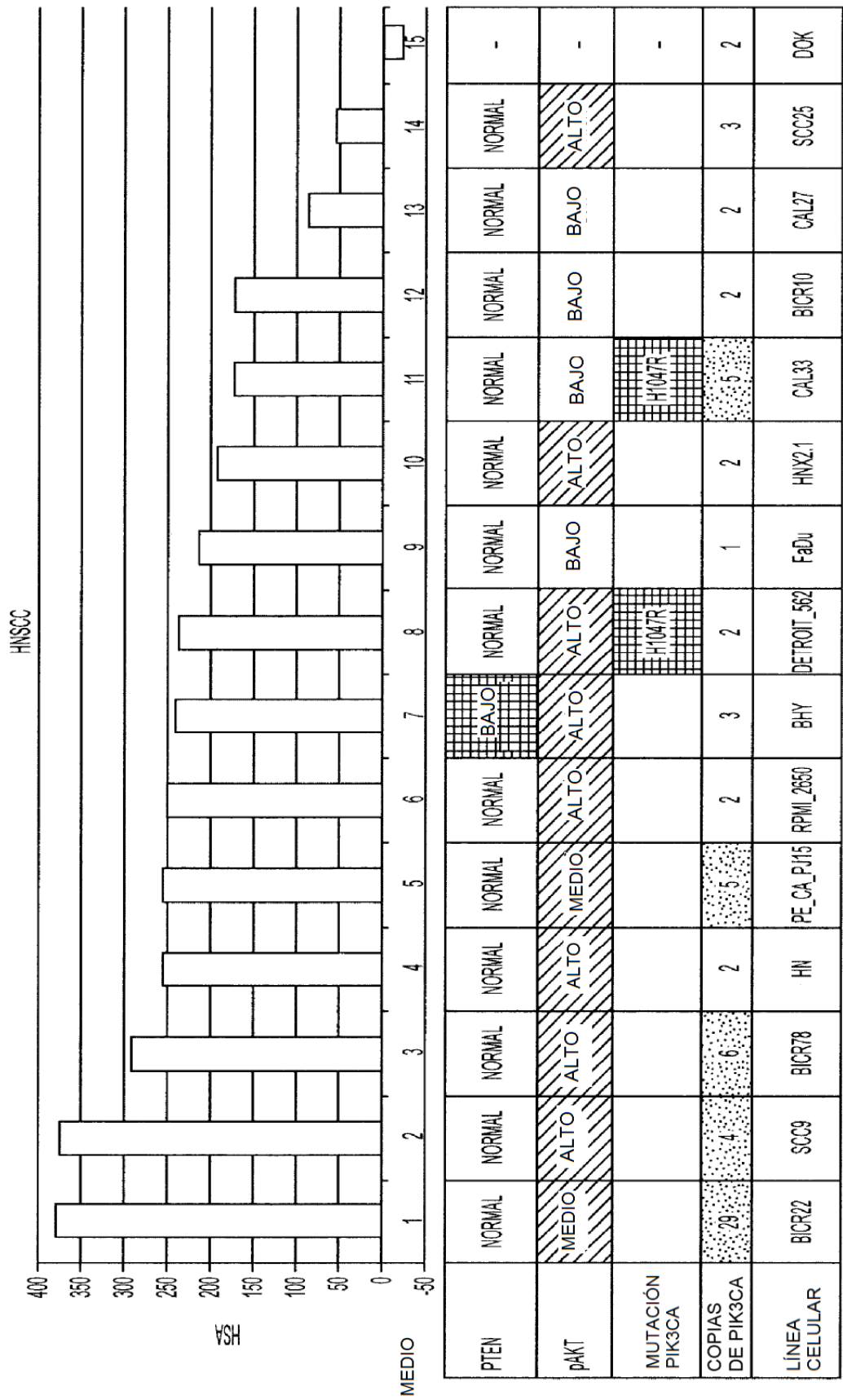


FIG. 17B

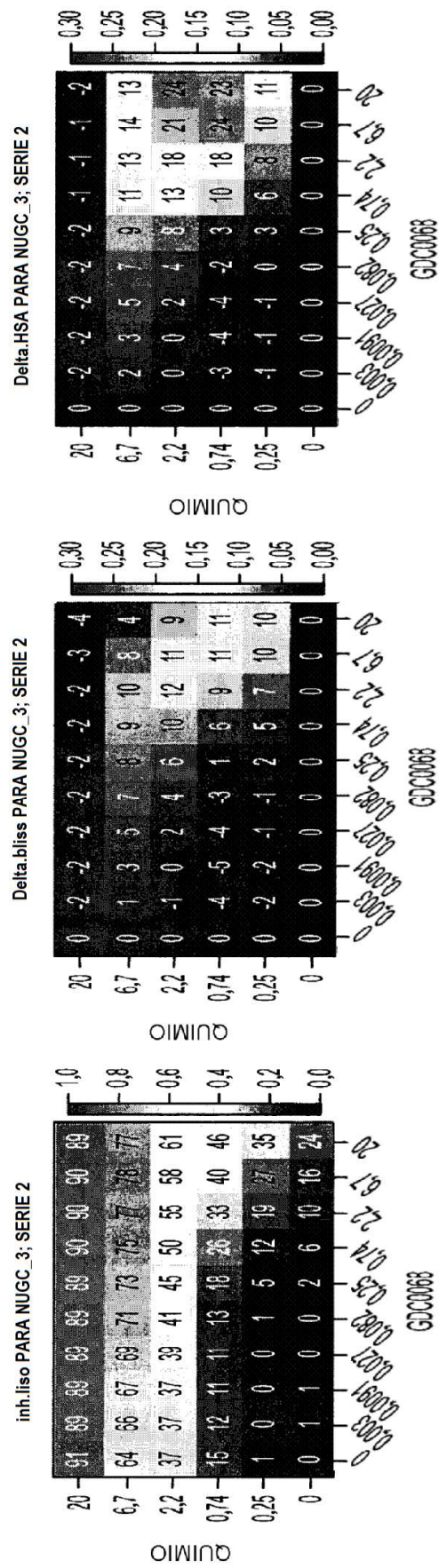


FIG. 18

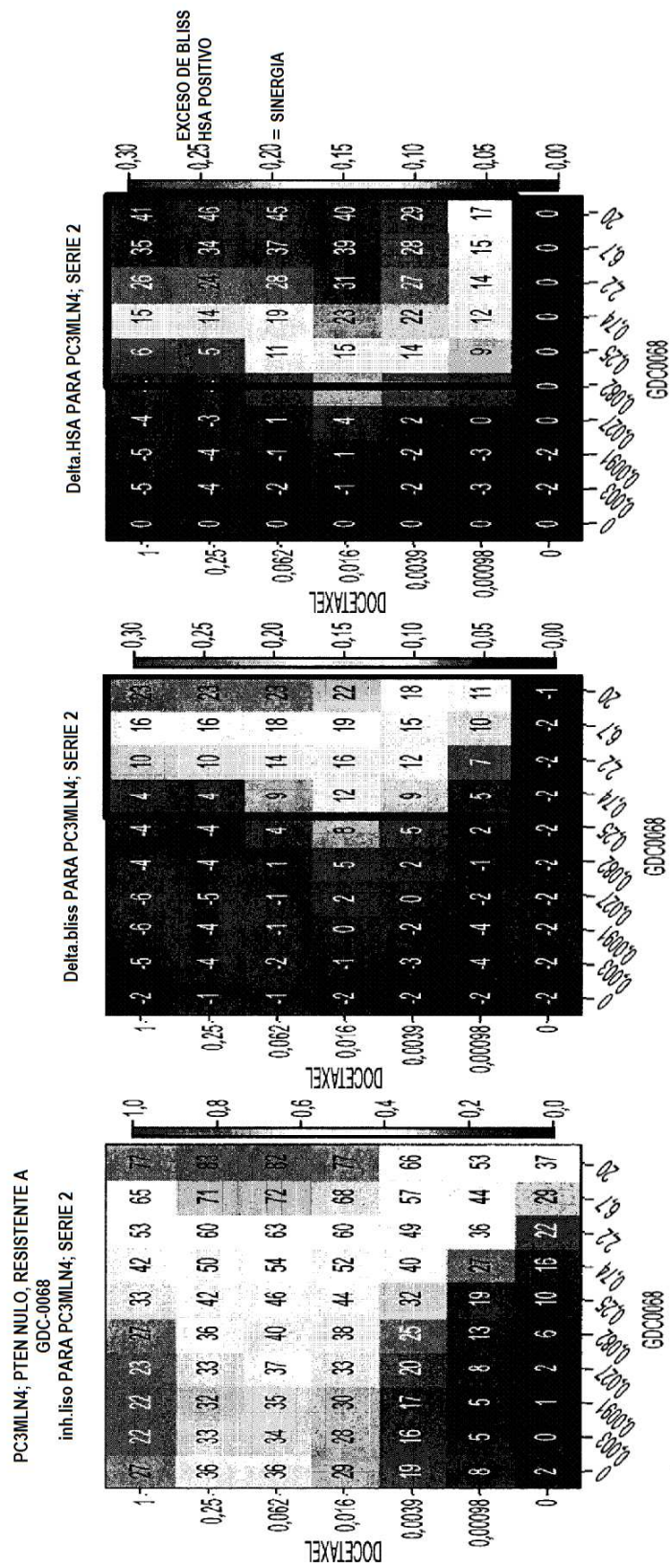


FIG. 19A

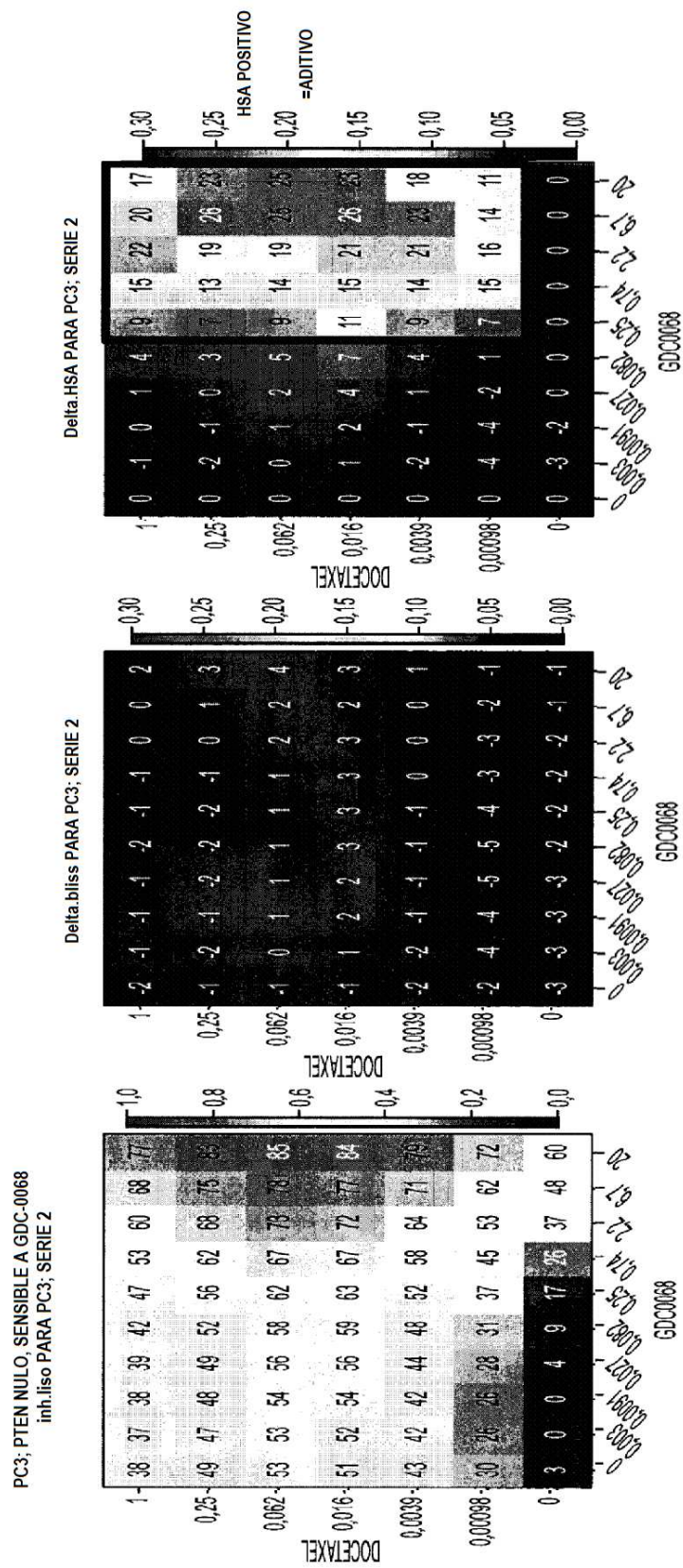
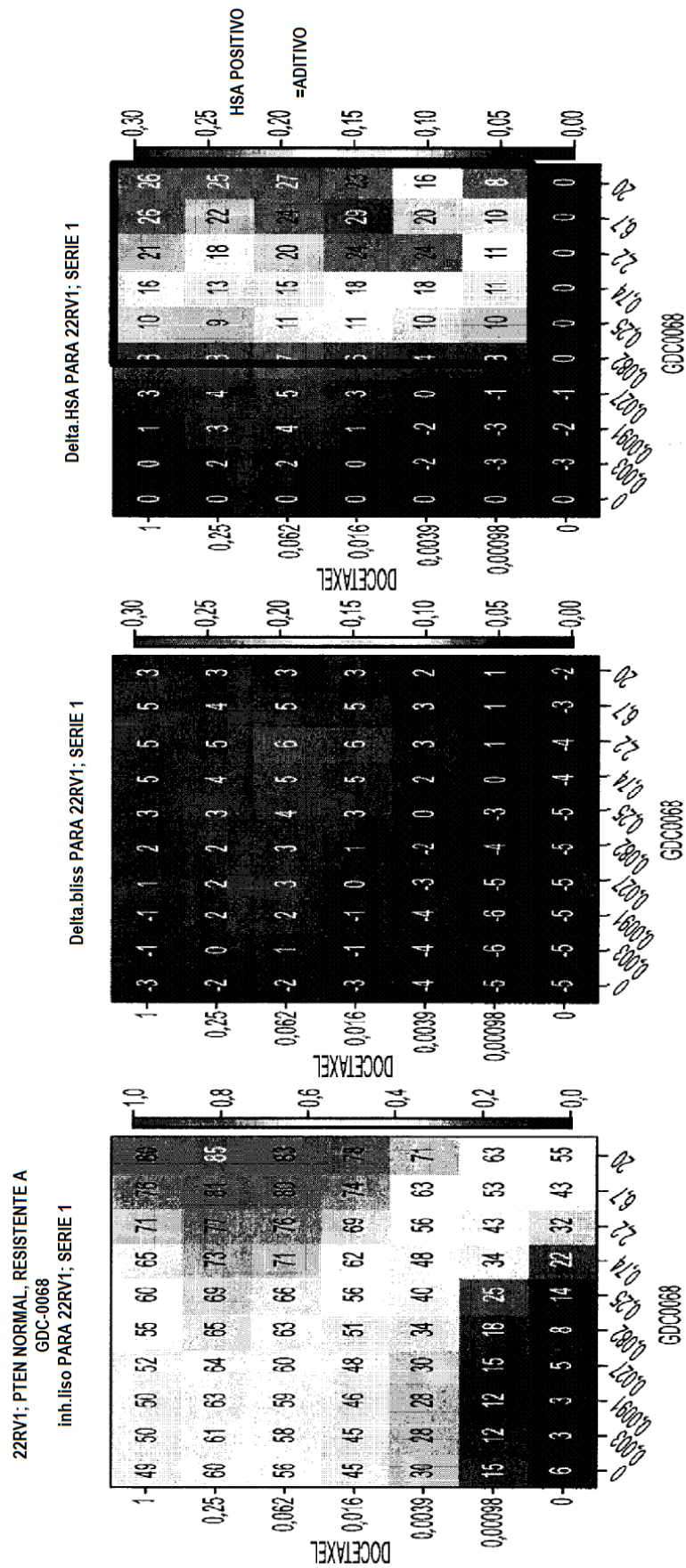


FIG. 19B



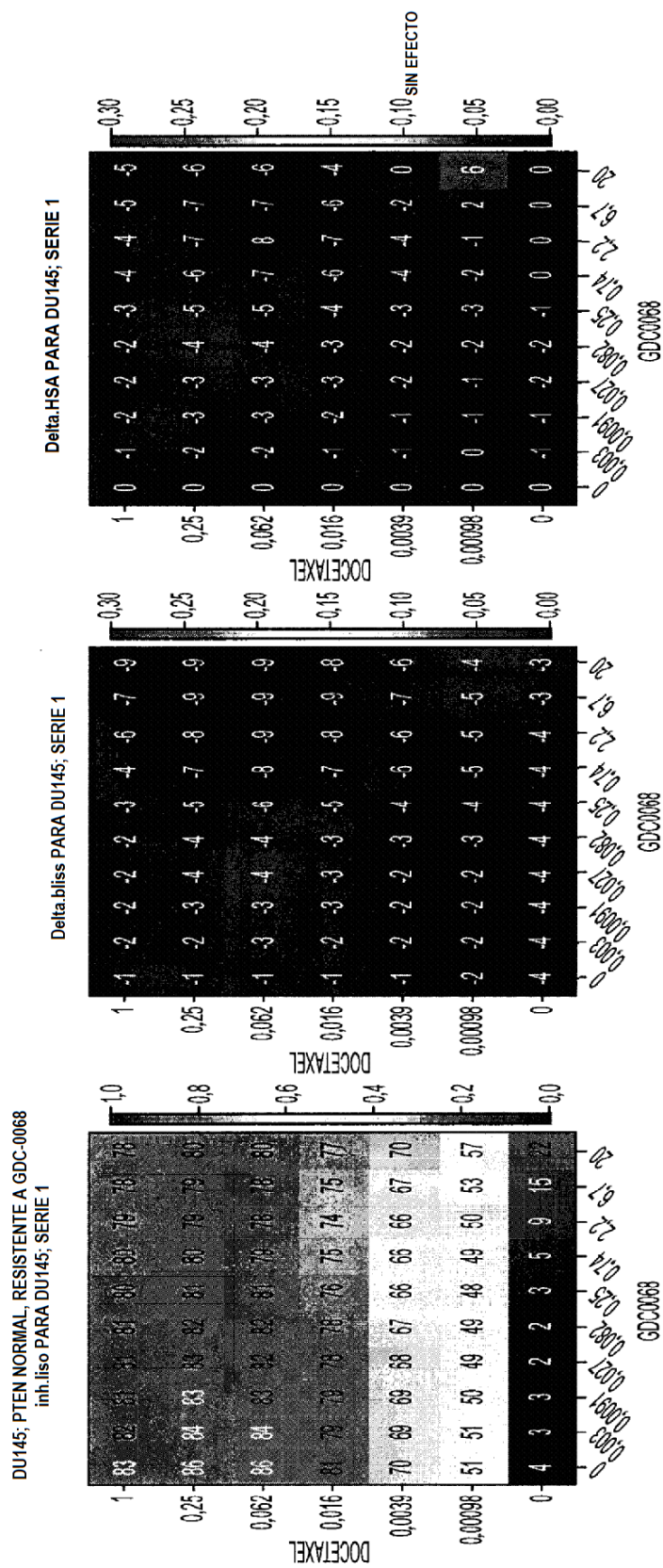


FIG. 20B

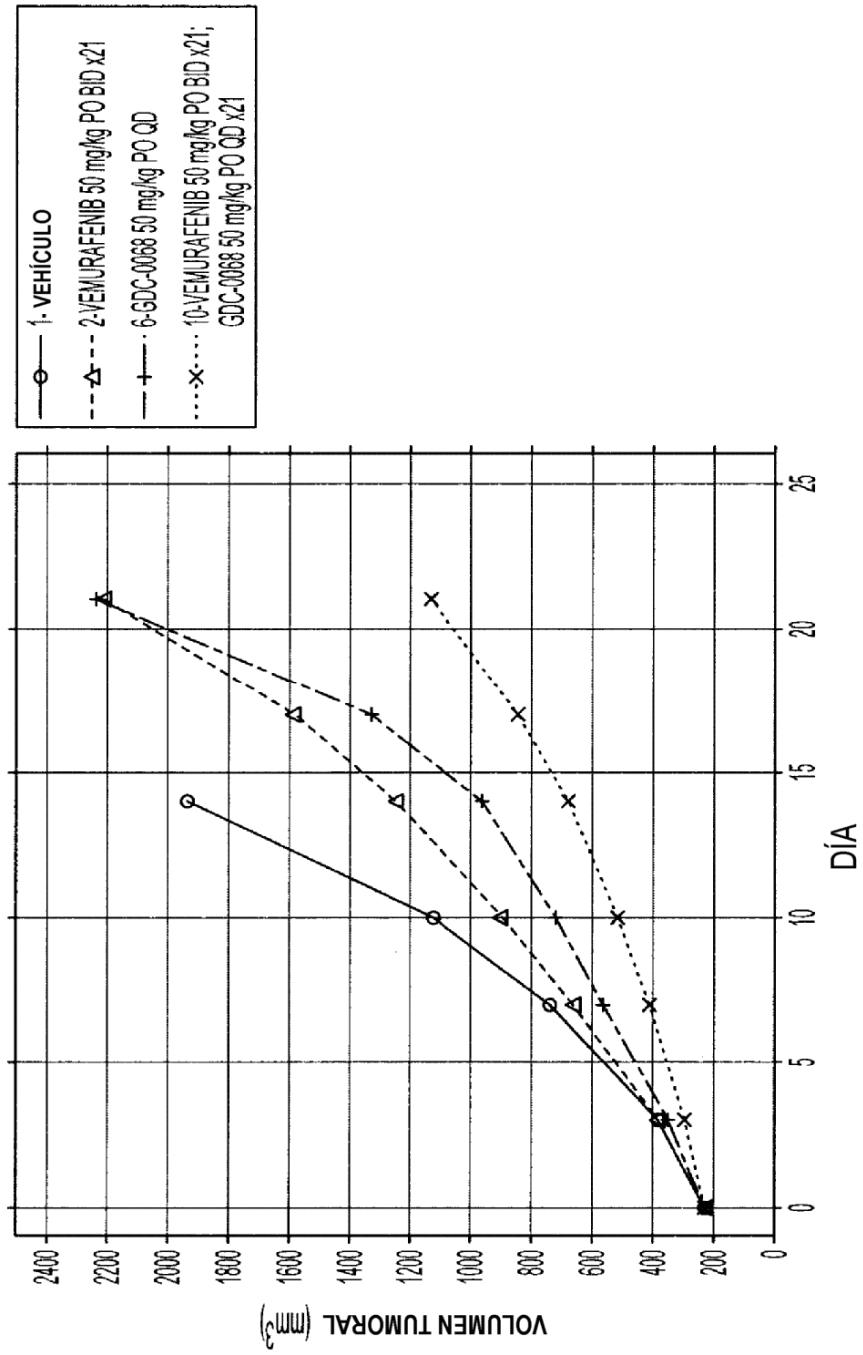


FIG. 21A

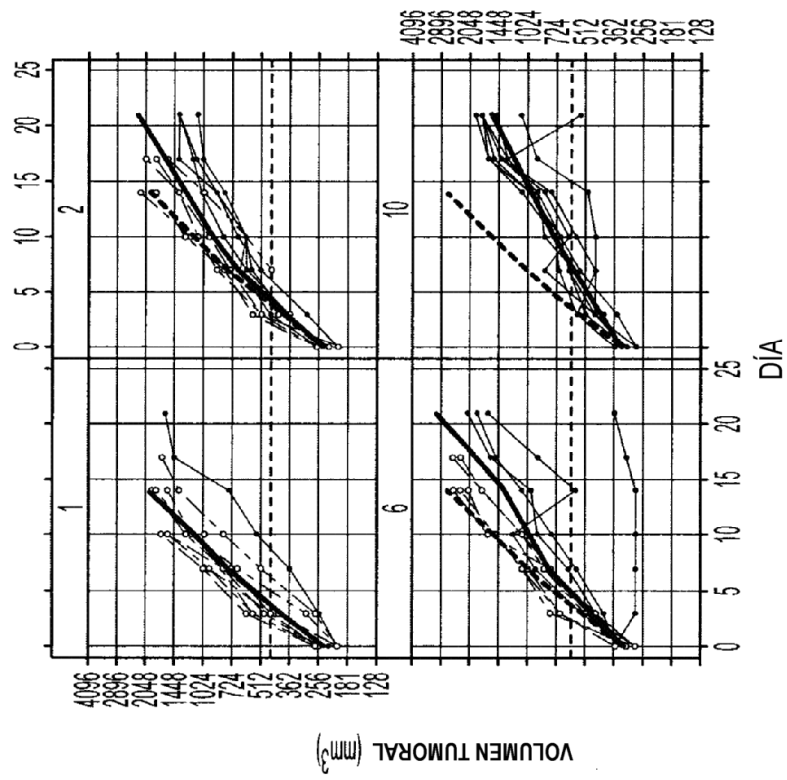


FIG. 21B

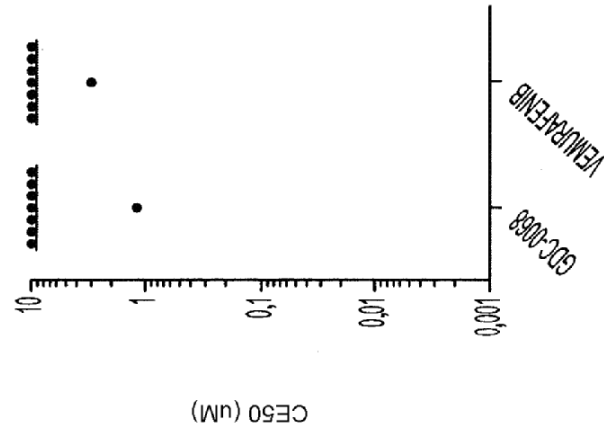


FIG. 22B

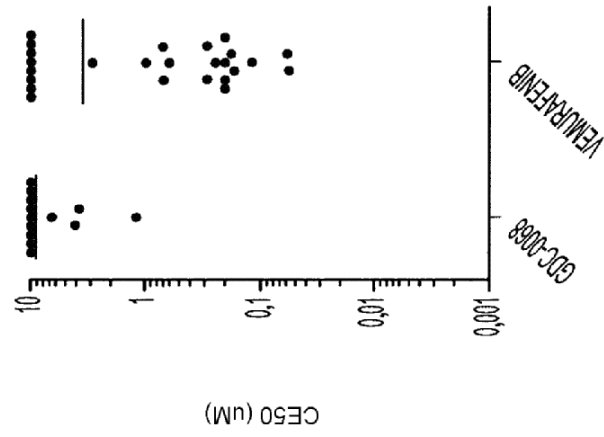


FIG. 22A

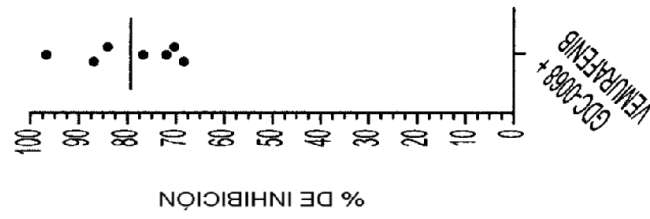


FIG. 23B

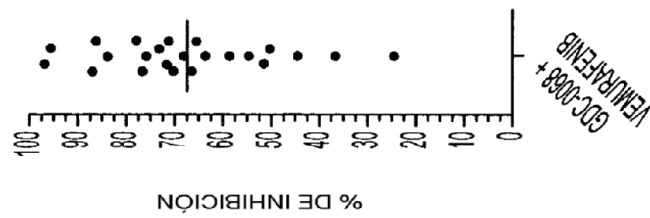


FIG. 23A

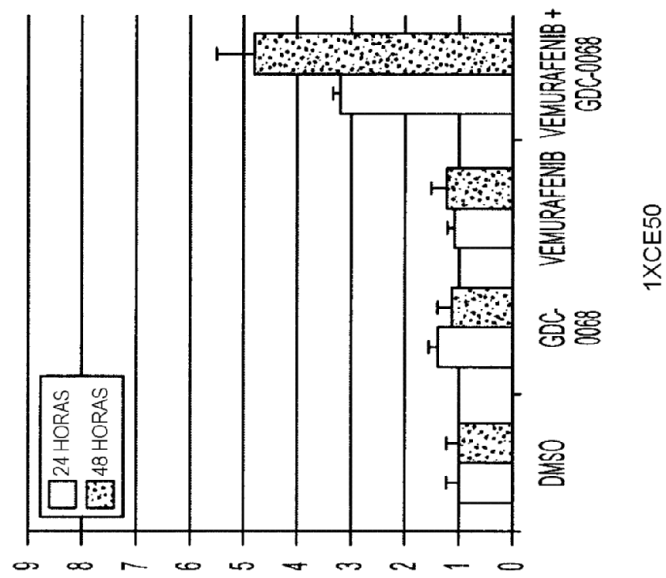


FIG. 24

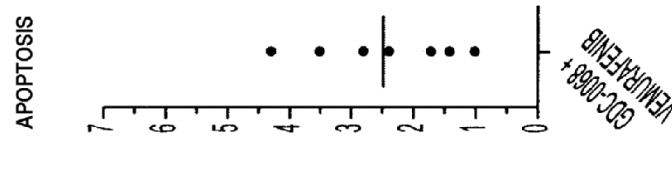


FIG. 25B

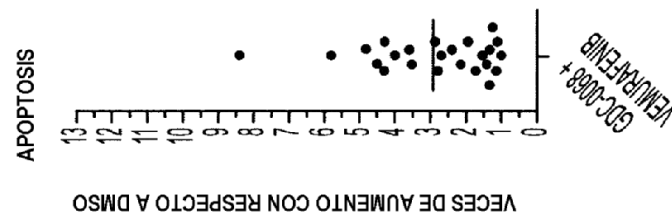


FIG. 25A

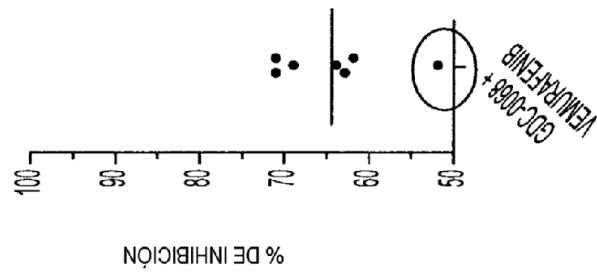


FIG. 26