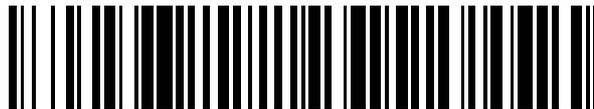


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 450**

51 Int. Cl.:

C07D 403/14 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2015 PCT/EP2015/056507**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015 WO15144803**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2015 E 15720269 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 3122742**

54 Título: **Derivados de la quinoxalina útiles como moduladores de la FGFR quinasa**

30 Prioridad:

26.03.2014 EP 14161820

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

01.03.2019

73 Titular/es:

**ASTEX THERAPEUTICS LTD (100.0%)
436 Cambridge Science Park, Milton Road,
Cambridge, Cambridgeshire, CB4 0QA, GB**

72 Inventor/es:

**VERMEULEN, WIM;
HOSTYN, STEVEN ANNA;
CUYCKENS, FILIP ALBERT CELINE;
JONES, RUSSELL MARK y
BROGGINI, DIEGO FERNANDO DOMENICO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 702 450 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

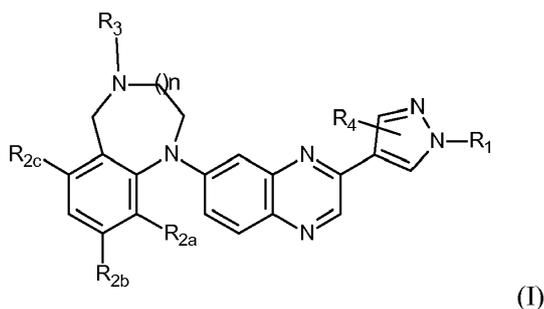
Derivados de la quinoxalina útiles como moduladores de la FGFR quinasa

Campo de la invención

5 La invención se refiere a nuevos compuestos derivados de quinoxalina, a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a procedimientos para la preparación de dichos compuestos y a dichos compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades, por ejemplo cáncer.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporcionan compuestos de fórmula (I):



10 que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde n representa un entero igual a 1 o 2;

R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxilC₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₄alquilo;

R_{2a} representa hidrógeno, fluoro o cloro;

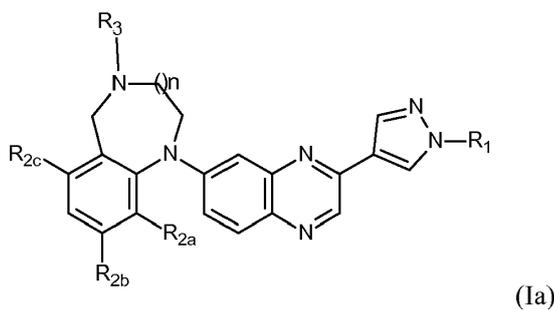
15 R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

R₃ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, o C₁₋₂alquilo sustituido con C₃₋₆cicloalquilo;

R₄ representa hidrógeno, metilo o etilo;

las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

En una realización se proporcionan compuestos de fórmula (Ia):



20 que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde n representa un entero igual a 1 o 2;

R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxilC₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₄alquilo;

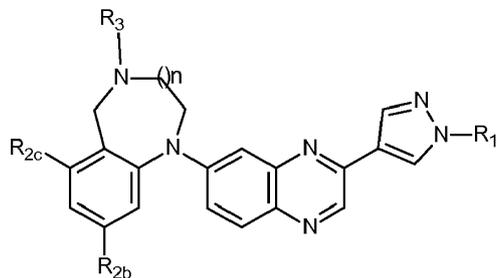
25 R_{2a} representa hidrógeno, fluoro o cloro;

R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

R₃ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, o C₁₋₂alquilo sustituido con C₃₋₆cicloalquilo;

las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

En una realización se proporcionan compuestos de fórmula (Ib):



(Ib)

que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

5 n representa un entero igual a 1 o 2;

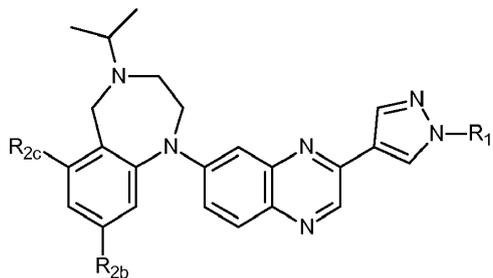
R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxilC₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₄alquilo;

R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

R₃ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, o C₁₋₂alquilo sustituido con C₃₋₆cicloalquilo;

10 las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

En una realización se proporcionan compuestos de fórmula (Ic):



(Ic)

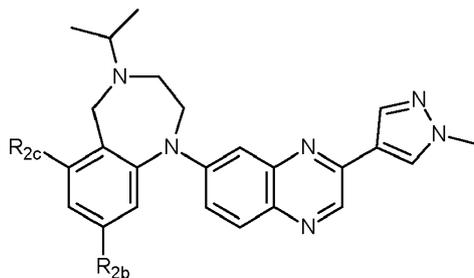
que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

15 R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxilC₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₄alquilo;

R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

En una realización se proporcionan compuestos de fórmula (Id):



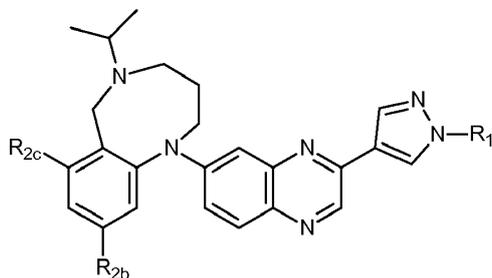
(Id)

20 que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

En una realización se proporcionan compuestos de fórmula (Ie):



(Ie)

que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

- 5 R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxic₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₄alquilo;

R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o solvatos de los mismos.

- 10 WO2006/092430, WO2008/003702, WO01/68047, WO2005/007099, WO2004/098494, WO2009/141386, WO2004/030635, WO2008/141065, WO2011/026579, WO2011/028947, WO2007/003419, WO00/42026, WO2012/154760, WO2011/047129, WO2003/076416, WO2002/096873, WO2000/055153, EP548934, US4166117, WO2011/135376, WO2012/073017, WO2013/061074, WO2013/061081, WO2013/061077, WO2013/061080, WO2013/179034, WO2013/179033, WO2014/174307, cada una de las cuales divulga una serie de derivados de heterociclilo.

- 15 Descripción detallada de la invención.

A menos que el contexto indique otra cosa, las referencias a la fórmula (I) en todas las secciones de este documento (incluidos los usos, métodos y otros aspectos de la invención) incluyen referencias a todas las demás subfórmulas (por ejemplo, Ia, Ib, Ic, Id), subgrupos, preferencias, realizaciones y ejemplos como se definen aquí.

- 20 El prefijo "C_{x-y}" (donde x e y son números enteros) como se usa en este documento se refiere al número de átomos de carbono en un grupo dado. Por lo tanto, un grupo C₁₋₆ alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo C₃₋₆ cicloalquilo contiene de 3 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxil C₁₋₆ alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, y así sucesivamente.

- 25 El término "C₁₋₂ alquilo", "C₁₋₄ alquilo" o "C₁₋₆ alquilo" como se usa en el presente documento como grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado que contiene 1 o 2, o de 1 a 4 o de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo o hexilo y similares.

El término "C₃₋₆ cicloalquilo" como se usa en el presente documento se refiere a un anillo de hidrocarburo monocíclico saturado de 3 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo.

- 30 El término "hidroxil-C₁₋₄ alquilo" o "hidroxil-C₁₋₆ alquilo", como se usa en el presente documento como grupo o parte de un grupo, se refiere a un grupo C₁₋₄ alquilo o C₁₋₆ alquilo como se define en el presente documento en el que uno o más de un átomo de hidrógeno se reemplaza con un grupo hidroxilo. Los términos "hidroxil-C₁₋₄ alquilo" o "hidroxil-C₁₋₆ alquilo" incluyen, por lo tanto, monohidroxil-C₁₋₄ alquilo, monohidroxil-C₁₋₆ alquilo y también polihidroxil-C₁₋₄ alquilo y polihidroxil-C₁₋₆ alquilo. Puede haber uno, dos, tres o más átomos de hidrógeno reemplazados con un grupo hidroxilo, por lo que el hidroxil-C₁₋₄ alquilo o hidroxil-C₁₋₆ alquilo puede tener uno, dos, tres o más grupos hidroxilo. Ejemplos de tales grupos incluyen hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo y similares.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), n representa un entero igual a 1.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), n representa un entero igual a 2.

- 40 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular metilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular etilo.

ES 2 702 450 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₁ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2a} representa hidrógeno o fluoro.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2a} representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2a} representa fluoro.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxil.
- 10 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} representa hidroxil y R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₃ representa hidrógeno.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₄ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R₄ representa metilo o etilo.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (I),
- n representa un entero igual a 1;
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo;
- R_{2a} representa hidrógeno o fluoro, en particular hidrógeno;
- R_{2b} representa metoxi;
- 25 R_{2c} representa metoxi;
- R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo;
- R₄ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I),
- 30 n representa un entero igual a 1 o 2;
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;
- R_{2a} representa hidrógeno o fluoro, en particular hidrógeno;
- R_{2b} representa metoxi;
- R_{2c} representa metoxi;
- 35 R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo o metilo;
- R₄ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), n representa un entero igual a 1.

ES 2 702 450 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), n representa un entero igual a 2.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular metilo.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular etilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₁ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2a} representa hidrógeno o fluoro.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2a} representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2a} representa fluoro.
- 10 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxil.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} representa hidroxil y R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₃ representa hidrógeno.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia),
n representa un entero igual a 1;
- 25 R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo;
R_{2a} representa hidrógeno o fluoro, en particular hidrógeno;
R_{2b} representa metoxi;
R_{2c} representa metoxi;
- 30 R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia),
n representa un entero igual a 1 o 2;
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;
R_{2a} representa hidrógeno o fluoro, en particular hidrógeno;
- 35 R_{2b} representa metoxi;
R_{2c} representa metoxi;
- R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo o metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), n representa un entero igual a 1.

ES 2 702 450 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), n representa un entero igual a 2.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular metilo.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular etilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₁ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2c} representa metoxi.
- 10 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2c} representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} representa hidroxilo y R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxilo.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₃ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular metilo.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib),
- n representa un entero igual a 1;
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo;
- R_{2b} representa metoxi;
- R_{2c} representa metoxi;
- 25 R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib),
- n representa un entero igual a 1 o 2;
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;
- 30 R_{2b} representa metoxi;
- R_{2c} representa metoxi;
- R₃ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo o metilo.
- 35 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular etilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R₁ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} representa metoxi.
- 40 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} representa hidroxilo.

ES 2 702 450 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} representa hidroxil y R_{2c} representa metoxi.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic),
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo;
- R_{2b} representa metoxi;
- 10 R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic),
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;
- R_{2b} representa metoxi;
- R_{2c} representa metoxi.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxil.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} representa hidroxil y R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Id), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular metilo.
- 25 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₆alquilo, más en particular etilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R₁ representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} representa hidroxil.
- 30 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} representa metoxi y R_{2c} representa hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} representa hidroxil y R_{2c} representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} y R_{2c} ambos representan metoxi.
- 35 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie), R_{2b} y R_{2c} ambos representan hidroxil.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie),
- R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo;

R_{2b} representa metoxi;

R_{2c} representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (Ie),

R₁ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;

5 R_{2b} representa metoxi;

R_{2c} representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I),

n representa un entero igual a 1 o 2;

R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo, más en particular metilo o etilo;

10 R_{2a} representa hidrógeno o fluoro, en particular hidrógeno;

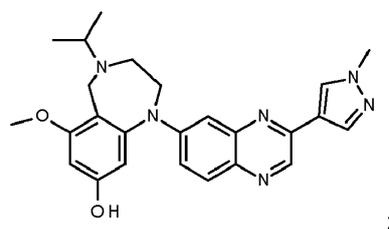
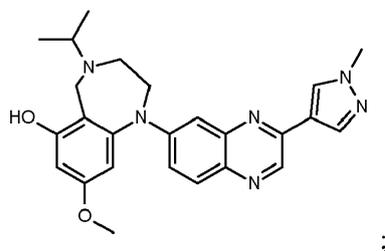
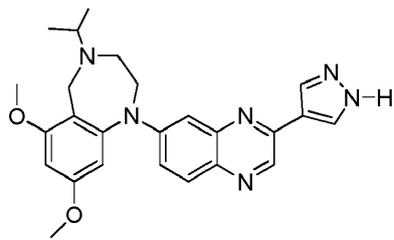
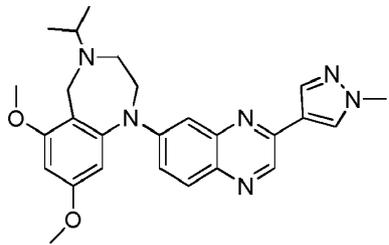
R_{2b} representa metoxi o hidroxil;

R_{2c} representa metoxi o hidroxil;

R₃ representa C₁₋₆alquilo, más en particular C₁₋₄alquilo, incluso más en particular isopropilo o metilo;

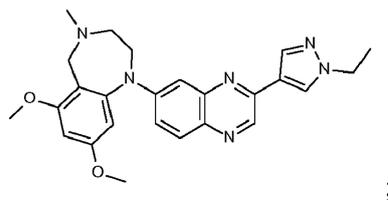
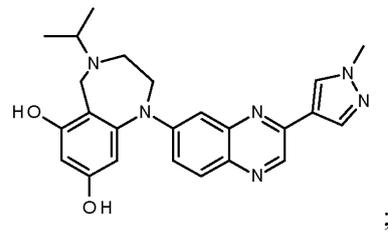
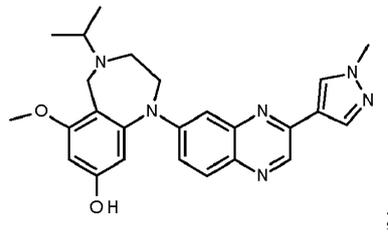
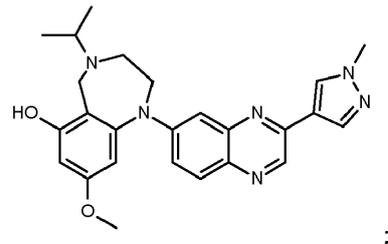
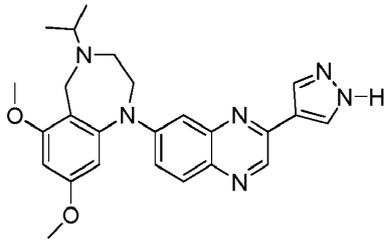
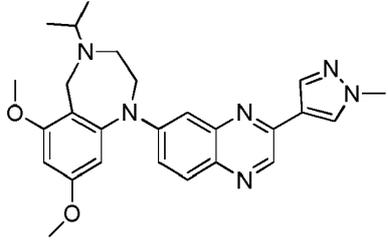
R₄ representa hidrógeno.

15 En una realización, el compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento se selecciona de los siguientes compuestos o es uno de los siguientes compuestos:

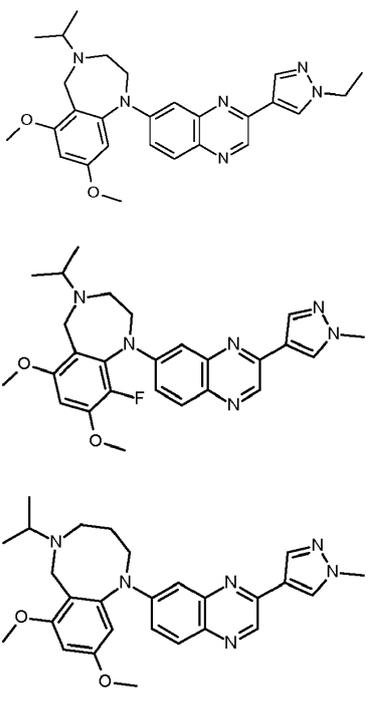


una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento se selecciona de los siguientes compuestos o es uno de los siguientes compuestos:



5



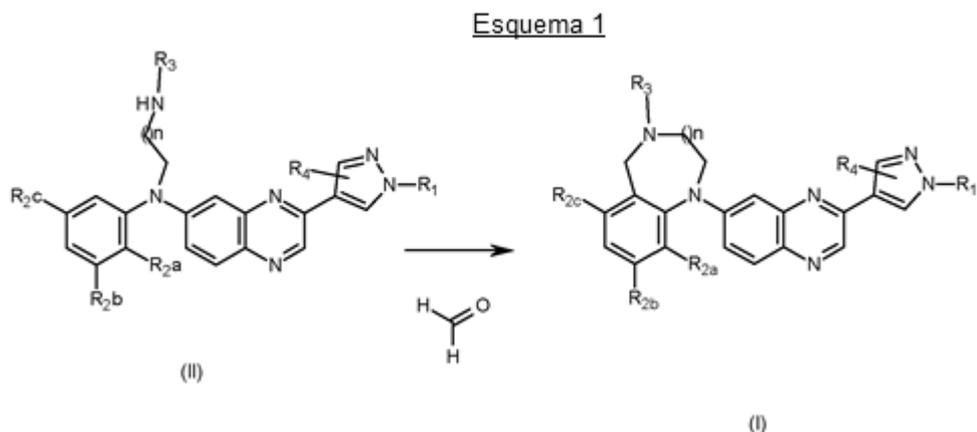
una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

- 5 Para evitar dudas, debe entenderse que cada preferencia general y específica, realización y ejemplo para un sustituyente se pueden combinar con cada preferencia general y específica, realización y ejemplo para uno o más, preferiblemente, todos los demás sustituyentes como se definen aquí y que todas estas realizaciones están abarcadas por esta solicitud.

Métodos para la preparación de compuestos de fórmula (I)

- 10 En esta sección, como en todas las otras secciones de esta solicitud, a menos que el contexto indique otra cosa, las referencias a la fórmula (I) también incluyen todos los demás subgrupos y ejemplos de los mismos, como se define en el presente documento.

En general, los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con el siguiente esquema de reacción

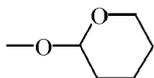


- 15 En el Esquema 1, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

1: reacción de un intermedio de fórmula (II) con formaldehído en presencia de un solvente adecuado, tal como, por ejemplo, dioxano, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, a una temperatura que varía desde la temperatura ambiente hasta el reflujo.

Se considera que está dentro del conocimiento de los expertos en la técnica, reconocer en qué condición y en qué parte de la molécula puede ser apropiado un grupo protector. Por ejemplo, grupo protector en el sustituyente R₁ o en la unidad estructural pirazol, o grupo protector en el sustituyente R₃ o en el sustituyente R_{2a,b,c} o combinaciones de los mismos. También se considera que el experto en la técnica puede reconocer el grupo protector más factible, tal como, por ejemplo, C(=O)-O-C₁₋₄alquilo o

5



o O-Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃) o -CH₂-O-CH₂CH₂-O-CH₃.

La presente invención también comprende compuestos deuterados. Estos compuestos deuterados se pueden preparar utilizando los intermedios deuterados apropiados durante el proceso de síntesis.

10 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden convertir entre sí mediante reacciones conocidas en la técnica o transformaciones de grupos funcionales.

Los compuestos de fórmula (I) en donde R₁ representa hidrógeno se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I) en donde R₁ representa C₁₋₆ alquilo o hidroxi-C₁₋₆ alquilo, por reacción con C₁₋₆ alquilo-W o hidroxi-C₁₋₆ alquilo-W, en donde W representa un grupo saliente adecuado, tal como por ejemplo halo, por ejemplo, bromo y similares, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, hidruro de sodio o carbonato de potasio, y un solvente adecuado, tal como, por ejemplo, acetonitrilo o N,N-dimetilformamida.

15

Los compuestos de fórmula (I) en donde R₁ representa hidrógeno también se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I) en donde R₁ representa alquilo C₁₋₆alquilo-OH, por reacción con W-C₁₋₆alquilo-O-Si(CH₃)₂(C(CH₃)₃) en presencia de una base adecuada, tal como por ejemplo hidruro de sodio, y un solvente adecuado, tal como por ejemplo N,N-dimetilformamida, seguido de una reacción de desprotección del grupo protector sililo por métodos conocidos en la técnica.

20

Los compuestos de fórmula (I) en donde R₁ representa hidrógeno, también se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I) en donde R₁ representa etilo sustituido con -S(=O)₂-C₁₋₆alquilo, por reacción con C₁₋₆ alquil-vinilsulfona, en presencia de una base adecuada, tal como por ejemplo trietilamina, y un solvente adecuado, tal como por ejemplo un alcohol, por ejemplo metanol o por reacción con C₁₋₆alquil-2-bromoetilsulfona en presencia de un agente de desprotonación adecuado, tal como por ejemplo NaH, y un solvente adecuado, tal como por ejemplo dimetilformamida. Los compuestos de fórmula (I) en donde R_{2b} o R_{2c} representa -OCH₃ pueden convertirse en un compuesto de fórmula (I) en donde R_{2b} o R_{2c} representan -OH por reacción con tribromuro de boro en presencia de un solvente adecuado, tal como por ejemplo diclorometano.

25

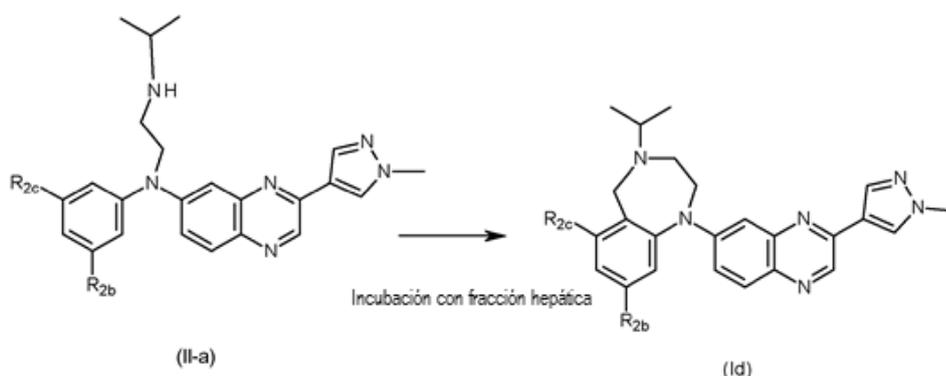
Los compuestos de fórmula (I) en donde R_{2b} o R_{2c} representa -OH se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I) en donde R_{2b} o R_{2c} representan -OCH₃ por reacción con yodo metilo en presencia de una base adecuada, tal como por ejemplo carbonato de potasio y un solvente adecuado, tal como por ejemplo N,N-dimetilformamida.

30

En general, los compuestos de fórmula (Id) también pueden prepararse incubándolos con fracciones hepáticas de animales, por ejemplo rata o humano, y subsecuentemente aislar los productos deseados del medio de incubación de acuerdo con el siguiente esquema de reacción.

35

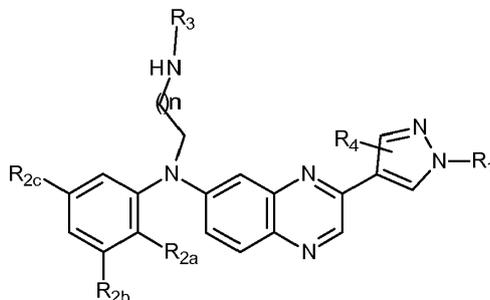
Esquema 2



Los intermedios de fórmula (II) o (II-a) se pueden preparar como se describe en el documento WO2011/135376 (por ejemplo, compuestos de fórmula (I-b) o (I-b-3) del documento WO2011/135376).

Un aspecto adicional de la invención es un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento, proceso que comprende:

- 5 (i) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con formaldehído en presencia de un solvente adecuado, tal como por ejemplo dioxano, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, a una temperatura adecuada, tal como una temperatura que varía de temperatura ambiente hasta reflujo;



(II)

en donde R_1 , R_{2a} , R_{2b} , R_{2c} , R_3 , R_4 y n son como se definen aquí; y opcionalmente a continuación, convertir un compuesto de fórmula (I) en otro compuesto de fórmula (I).

Sales, solvatos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos

- 10 En esta sección, como en todas las otras secciones de esta solicitud, a menos que el contexto indique otra cosa, las referencias a la fórmula (I) incluyen referencias a todos los demás subgrupos, preferencias, realizaciones y ejemplos de la misma, tal como se definen en el presente documento.

- A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular también incluye formas iónicas, sales, solvatos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, tautómeros y sus isótopos, por ejemplo, como se describe a continuación; preferiblemente, las formas iónicas, o sales o tautómeros o isómeros ópticos o isómeros geométricos o solvatos de los mismos; y más preferiblemente, las formas iónicas, o sales o tautómeros o solvatos de los mismos, incluso más preferiblemente las sales o tautómeros o solvatos de los mismos. Muchos compuestos de la fórmula (I) pueden existir en forma de sales, por ejemplo sales de adición de ácido o, en ciertos casos, sales de bases orgánicas e inorgánicas tales como sales de carboxilato, sulfonato y fosfato. Todas estas sales están dentro del alcance de esta invención, y las referencias a los compuestos de la fórmula (I) incluyen las formas de sal de los compuestos. Se apreciará que las referencias a "derivados" incluyen referencias a formas iónicas, sales, solvatos, isómeros ópticos, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de los mismos.

- De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto como se define en el presente documento o una sal, tautómero o solvato del mismo. De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto como se define en el presente documento o una sal o solvato del mismo. Las referencias a compuestos de fórmula (I) y subgrupos de los mismos como se definen en el presente documento incluyen dentro de su alcance las sales o solvatos o tautómeros de los compuestos.

- Las formas de sal de los compuestos de la invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se discuten en Berge et al. (1977) "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19. Sin embargo, las sales que no son farmacéuticamente aceptables también pueden prepararse como formas intermedias que luego pueden convertirse en sales farmacéuticamente aceptables. Tales formas de sales no farmacéuticamente aceptables, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención, también forman parte de la invención.

- Las sales de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene una unidad estructural básico o ácido mediante métodos químicos convencionales, tales como los métodos descritos en Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, Agosto de 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar el ácido libre o las formas de base de estos compuestos con la base o el ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, se utilizan medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Los compuestos de la invención pueden existir como mono- o di-sales dependiendo del pKa del ácido a partir del cual se forma la sal.

- Las sales de adición de ácido se pueden formar con una amplia variedad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales formadas con un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácidos acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), L-aspartico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) canfórico, canfor-sulfónico, (+)-(1S)-canfor-10-

5 sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclamico, dodecil sulfurico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo D- glucurónico), glutámico (por ejemplo L-glutámico), α -oxoglutárico, gliucólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, hidriódico, isetiónico, láctico, (por ejemplo (+)-L-láctico, (\pm)-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico, (-)-L- málico, malónico, (\pm)-DL-mandélico, metanosulfónico, naftalenosulfónico (por ejemplo naftaleno-2-sulfónico), naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidroxi-2- naftoico, nicotínico, Nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, pirúvico, salicílico, 4-amino- salicílico, sebáico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiocianico, toluenosulfónico (por ejemplo *p*-toluenosulfónico), undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

10 Un grupo particular de sales consiste en sales formadas de ácido acético, clorhídrico, hidriódico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, succínico, maleico, málico, isetiónico, fumárico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, naftalenosulfónico, valérico, acético, propanoico, butanoico, malónico, glucurónico y lactobiónico. Otro grupo de sales de adición de ácido incluye sales formadas a partir de ácidos acético, adípico, ascórbico, aspártico, cítrico, DL-láctico, fumárico, glucónico, glucúrico, hipúrico, clorhídrico, glutámico, DL-
15 málico, metanosulfónico, sebáico, esteárico, succínico y tartárico.

Si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico, entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na^+ y K^+ , cationes de metales alcalinotérreos tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} , y otros cationes tales como Al^{3+} . Ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH_4^+) e iones de amonio sustituido (por ejemplo, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+).

20

Ejemplos de algunos iones de amonio sustituidos adecuados son los derivados de: etilamina, dietilamina, dicitclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion amonio cuaternario común es $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

25 Cuando los compuestos de la fórmula (I) contienen una función amina, estos pueden formar sales de amonio cuaternario, por ejemplo, por reacción con un agente alquilante de acuerdo con métodos bien conocidos por los expertos. Tales compuestos de amonio cuaternario están dentro del alcance de la fórmula (I). Los compuestos de fórmula (I) que contienen una función amina también pueden formar N-óxidos. Una referencia en este documento a un compuesto de la fórmula (I) que contiene una función amina también incluye el N-óxido. Cuando un compuesto
30 contiene varias funciones aminas, uno o más de un átomo de nitrógeno puede oxidarse para formar un N-óxido. Ejemplos particulares de N-óxidos son los N-óxidos de una amina terciaria o un átomo de nitrógeno de un heterociclo que contiene nitrógeno. Los N-óxidos se pueden formar mediante el tratamiento de la amina correspondiente con un agente oxidante tal como el peróxido de hidrógeno o un peróxido (por ejemplo, un ácido peroxicarboxílico), véase por ejemplo *Advanced Organic Chemistry*, por Jerry March, 4ª edición, Wiley Interscience, páginas. Más particularmente,
35 los N-óxidos se pueden producir mediante el procedimiento de LW Deady (*Syn. Comm.* (1977), 7, 509-514) en el que el compuesto de amina reacciona con ácido *m*-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por ejemplo, en un solvente inerte tal como diclorometano.

Los compuestos de la invención pueden formar solvatos, por ejemplo con agua (es decir, hidratos) o solventes orgánicos comunes. Como se usa en el presente documento, el término "solvato" significa una asociación física de los compuestos de la presente invención con una o más moléculas de solvente. Esta asociación física implica grados variables de enlace iónico y covalente, incluido el enlace de hidrógeno.

40

En ciertos casos, el solvato se podrá aislar, por ejemplo, cuando una o más moléculas de solvente se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. El término "solvato" pretende abarcar solvatos tanto en fase de solución como aislables. Ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen compuestos de la invención en combinación con agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético o etanolamina y similares. Los compuestos de la invención pueden ejercer sus efectos biológicos mientras están en solución.

45

Los solvatos son bien conocidos en química farmacéutica. Pueden ser importantes para los procesos de preparación de una sustancia (por ejemplo, en relación con su purificación, el almacenamiento de la sustancia (por ejemplo, su estabilidad) y la facilidad de manejo de la sustancia y, frecuentemente, se forman como parte de las etapas de aislamiento o purificación de una síntesis química. Un experto en la técnica puede determinar por medio de técnicas estándar y de uso prolongado si se ha formado un hidrato u otro solvato por las condiciones de aislamiento o las condiciones de purificación utilizadas para preparar un compuesto dado. Ejemplos de tales técnicas incluyen Análisis Termogravimétrico (TGA), Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC), cristalografía de rayos X (por ejemplo cristalografía de rayos X de cristal único o difracción de rayos X en polvo) y RMN en estado sólido (SS-RMN, también conocido como RMN por Rotación en Ángulo Mágico, o MAS-RMN). (SS-RMN, también conocida como magia de ángulo, RMN o MASR giratoria) RMN). Tales técnicas son una parte tan importante del kit de herramientas analíticas estándar del químico experto como RMN, IR, HPLC y MS. Alternativamente, el experto en la técnica puede formar un solvato de forma deliberada usando condiciones de cristalización que incluyen una cantidad del solvente requerido para el solvato particular. Posteriormente, los métodos estándar descritos anteriormente, se pueden usar para

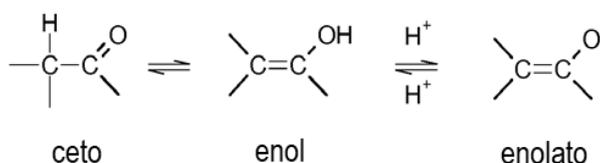
50

55

establecer si se han formado solvatos. La fórmula (I) también abarca cualquier complejo (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclodextrinas o complejos con metales) de los compuestos.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden tener una o más formas polimorfas (cristalinas) o amorfas y, como tales, pretenden incluirse en el alcance de la invención.

- 5 Los compuestos de la fórmula (I) pueden existir en un número de isómeros geométricos diferentes, y las formas tautoméricas y las referencias a los compuestos de la fórmula (I) incluyen todas estas formas. Para evitar dudas, cuando un compuesto puede existir en una de varias formas geométricas isoméricas o tautoméricas y solo una está descrita o mostrada específicamente, todas las demás están sin embargo incluidas en la fórmula (I). Otros ejemplos de formas tautoméricas incluyen, por ejemplo, las formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/enediaminas, nitroso/oxima, tiocetona/enetiolo, y nitro/aci-nitro.



- 15 Cuando los compuestos de fórmula (I) contienen uno o más centros quirales, y pueden existir en forma de dos o más isómeros ópticos, las referencias a los compuestos de fórmula (I) incluyen todas las formas isómeras ópticas de los mismos (por ejemplo, enantiómeros, epímeros y diastereoisómeros), ya sea como isómeros ópticos individuales, o mezclas (por ejemplo, mezclas racémicas) de dos o más isómeros ópticos, a menos que el contexto requiera otra cosa. Los isómeros ópticos pueden caracterizarse e identificarse por su actividad óptica (es decir, como isómeros + y - o isómeros *d* y *l*) o pueden caracterizarse en términos de su estereoquímica absoluta utilizando la nomenclatura "R y S" desarrollada por Cahn, Ingold and Prelog, véase *Advanced Organic Chemistry* por Jerry March, 4ª edición, John Wiley & Sons, New York, 1992, páginas 109-114, y véase también Cahn, Ingold & Prelog (1966) *Angew. Chem. En t. Ed. Engl.*, 5, 385-415. Los isómeros ópticos se pueden separar mediante una serie de técnicas que incluyen cromatografía quiral (cromatografía sobre un soporte quiral) y tales técnicas son bien conocidas por los expertos en la técnica. Como alternativa a la cromatografía quiral, los isómeros ópticos se pueden separar formando sales diastereoisoméricas con ácidos quirales tales como ácido (+)- tartárico, ácido (-)- piroglutámico, ácido (-)- di-toluoil-L-tartárico, ácido (+)-mandélico, ácido (-)-málico y (-)-canforsulfónico, que separa los diastereoisómeros por cristalización preferencial y luego disocia las sales para obtener el enantiómero individual de la base libre.

- 30 Cuando los compuestos de la fórmula (I) existen como dos o más formas isoméricas ópticas, un enantiómero en un par de enantiómeros puede exhibir ventajas sobre el otro enantiómero, por ejemplo, en términos de actividad biológica. Por lo tanto, en ciertas circunstancias, puede ser deseable usar como agente terapéutico solo uno de un par de enantiómeros, o solo uno de una pluralidad de diastereoisómeros. Por consiguiente, la invención proporciona composiciones que contienen un compuesto de fórmula (I) que tiene uno o más centros quirales, en donde al menos el 55% (por ejemplo, al menos el 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o el 95%) del compuesto de fórmula (I) está presente como un único isómero óptico (por ejemplo, enantiómero o diastereoisómero). En una realización general, el 99% o más (por ejemplo, sustancialmente toda) de la cantidad total del compuesto de fórmula (I) puede estar presente como un único isómero óptico (por ejemplo, enantiómero o diastereoisómero). Cuando se identifica una forma isomérica específica (por ejemplo, la configuración S o el isómero E), esto significa que dicha forma isomérica está sustancialmente libre de los otros isómeros, es decir, dicha forma isomérica está presente en al menos el 55%, 60%, 65 %, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% o más (por ejemplo, sustancialmente toda) de la cantidad total del compuesto de la invención.

- 40 Siempre que, anteriormente en la presente o de aquí en adelante, los compuestos incluyan el siguiente enlace , esto indica que el compuesto es un solo estereoisómero con configuración desconocida o una mezcla de estereoisómeros.

- 45 Los compuestos de la invención incluyen compuestos con una o más sustituciones isotópicas, y una referencia a un elemento particular incluye dentro de su alcance todos los isótopos del elemento. Por ejemplo, una referencia al hidrógeno incluye dentro de su alcance ¹H, ²H (D), y ³H (T). De manera similar, las referencias a carbono y oxígeno incluyen dentro de su alcance, respectivamente, ¹²C, ¹³C and ¹⁴C y ¹⁶O and ¹⁸O. Los isótopos pueden ser radiactivos o no radiactivos. En una realización de la invención, los compuestos no contienen isótopos radiactivos. Tales compuestos son preferidos para uso terapéutico. En otra realización, sin embargo, el compuesto puede contener uno o más radioisótopos. Los compuestos que contienen tales radioisótopos pueden ser útiles en un contexto de diagnóstico.

Proteínas tirosina quinasas (PTK)

Los compuestos de la invención descritos en este documento inhiben o modulan la actividad de ciertas tirosina quininas y, por lo tanto, los compuestos serán útiles en el tratamiento o profilaxis, en particular el tratamiento de estados patológicos o condiciones mediadas por esas tirosina quininas, en particular FGFR.

FGFR

5 La familia de factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) de los receptores de proteína tirosina quinasa (PTK) regula una amplia gama de funciones fisiológicas que incluyen mitogénesis, curación de heridas, diferenciación celular y angiogénesis y desarrollo. Tanto el crecimiento celular normal como el maligno, así como la proliferación, se ven afectados por los cambios en la concentración local de FGF, moléculas de señalización extracelular que actúan como factores autocrinos así como paracrinos. La señalización autocrina de FGF puede ser particularmente importante en la progresión de los cánceres dependientes de hormonas esteroides a un estado independiente de hormonas. Las FGF y sus receptores se expresan en niveles aumentados en varios tejidos y líneas celulares y se cree que la sobreexpresión contribuye al fenotipo maligno. Adicionalmente, un número de oncogenes son homólogos de genes que codifican receptores del factor de crecimiento, y existe un potencial para la activación aberrante de la señalización dependiente de FGF en el cáncer de páncreas humano (Knights et al., *Pharmacology and Therapeutics* 2010 125: 1 (105-117); Korc M. et al *Current Drug Drug Targets* 2009 9: 5 (639-651)).

Los dos miembros prototípicos son el factor de crecimiento de fibroblastos ácido (aFGF o FGF1) y el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF o FGF2), y hasta la fecha, se han identificado al menos veinte miembros distintos de la familia de FGF. La respuesta celular a los FGF se transmite a través de cuatro tipos de receptores del factor de crecimiento de fibroblastos de la proteína tirosina quinasa transmembrana de alta afinidad (FGFR) numerados del 1 al 4 (FGFR1 a FGFR4).

La interrupción de la vía FGFR1 debería afectar la proliferación de células tumorales, ya que esta quinasa se activa en muchos tipos de tumores además de las células endoteliales en proliferación. La sobreexpresión y activación de FGFR1 en la vasculatura asociada a tumor ha sugerido un papel para estas moléculas en la angiogénesis tumoral.

Un estudio reciente ha demostrado una relación entre la expresión de FGFR1 y la tumorigenicidad en los Carcinomas Lobulares Clásicos (CLC). Los CLC representan el 10-15% de todos los cánceres de mama y, en general, carecen de la expresión de p53 y Her2, mientras que retienen la expresión del receptor de estrógeno. Se demostró una amplificación génica de 8p12-p11.2 en aproximadamente el 50% de los casos de CLC y se demostró que esto estaba relacionado con un aumento de la expresión de FGFR1. Los estudios preliminares con ARNs dirigidos contra FGFR1, o una pequeña molécula inhibidora del receptor, mostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización. El Rbdomiosarcoma (RMS) es el sarcoma pediátrico de tejidos blandos más común, probablemente debido a una proliferación y diferenciación anormales durante la miogénesis esquelética. FGFR1 se sobreexpresa en tumores de rbdomiosarcoma primarios y se asocia con hipometilación de una isla CpG en 5' y expresión anormal de los genes AKT1, NOG y BMP4. FGFR1 también se ha relacionado con cáncer de pulmón escamoso, cáncer colorrectal, glioblastoma, astrocitomas, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer uterino.

El receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos tiene una alta afinidad por los factores de crecimiento de fibroblastos ácidos y/o básicos, así como los ligandos del factor de crecimiento de queratinocitos. El receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos también propaga los potentes efectos osteogénicos de los FGF durante el crecimiento y la diferenciación de los osteoblastos. Se demostró que las mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos, que conducen a complejas alteraciones funcionales, inducen una osificación anormal de las suturas craneales (craneosinostosis), lo que implica un papel importante de la señalización de FGFR en la formación de hueso intramembranoso. Por ejemplo, en el síndrome de Apert (AP), caracterizado por la osificación prematura de la sutura craneal, la mayoría de los casos se asocian con mutaciones puntuales que generan ganancia de función en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos. Además, la detección de mutaciones en pacientes con craneosinostosis sindrómica indica que varias mutaciones recurrentes de FGFR2 explican las formas graves del síndrome de Pfeiffer. Las mutaciones particulares de FGFR2 incluyen W290C, D321A, Y340C, C342R, C342S, C342W, N549H, K641R en FGFR2.

Varias anomalías graves en el desarrollo del esqueleto humano, que incluyen los síndromes de Apert, Crouzon, Jackson-Weiss, Beare-Stevenson cutis gyrata y Pfeiffer, están asociadas con la aparición de mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos. La mayoría, si no todos, los casos de Síndrome de Pfeiffer (PS) también son causados por la mutación de novo del gen del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos, y recientemente se demostró que las mutaciones en el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos rompen una de las reglas cardinales que rigen la especificidad del ligando. A saber, dos formas de empalme mutantes del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, FGFR2c y FGFR2b, han adquirido la capacidad de unirse y ser activadas por ligandos de FGF atípicos. Esta pérdida de especificidad del ligando conduce a una señalización aberrante y sugiere que los fenotipos graves de estos síndromes de enfermedad son el resultado de la activación dependiente de ligando ectópico del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos.

Las aberraciones genéticas de la tirosina quinasa del receptor de FGFR3, tales como translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales, dan como resultado receptores de FGFR3 expresados ectópicamente o desregulados,

5 constitutivamente activos. Tales anomalías están vinculadas a un subconjunto de mielomas múltiples y en la vejiga, el carcinoma de células escamosas oral, hepatocelular, y carcinomas cervicales. En consecuencia, los inhibidores de FGFR3 serían útiles en el tratamiento de mieloma múltiple, vejiga y carcinomas cervicales. FGFR3 también se sobreexpresa en el cáncer de vejiga, en particular el cáncer de vejiga invasivo. El FGFR3 se activa frecuentemente por mutación en el carcinoma urotelial (UC). El aumento de la expresión se asoció con la mutación (el 85% de los tumores mutantes mostraron una expresión de alto nivel), pero también el 42% de los tumores sin mutación detectable mostró sobreexpresión, incluidos muchos tumores invasivos de músculo. FGFR3 también está vinculado al cáncer de endometrio y tiroides.

10 La sobreexpresión de FGFR4 se ha relacionado con un mal pronóstico en los carcinomas de próstata y tiroides. Además, un polimorfismo de la línea germinal (Gly388Arg) se asocia con una mayor incidencia de cáncer de pulmón, mama, colon, hígado (HCC) y próstata. Además, también se ha encontrado que una forma truncada de FGFR4 (incluido el dominio de la quinasa) está presente en el 40% de los tumores pituitarios pero no en el tejido normal. Se ha observado sobreexpresión de FGFR4 en tumores de hígado, colon y pulmón. FGFR4 se ha implicado en el cáncer colorrectal y hepático donde la expresión de su ligando FGF19 es frecuentemente elevada. FGFR4 también está vinculado a astrocitomas, rhabdomyosarcoma.

15 Las condiciones fibróticas son un problema médico importante que resulta de una deposición anormal o excesiva de tejido fibroso. Esto ocurre en muchas enfermedades, incluyendo cirrosis hepática, glomerulonefritis, fibrosis pulmonar, fibrosis sistémica, artritis reumatoide, así como el proceso natural de curación de heridas. Los mecanismos de la fibrosis patológica no se entienden completamente, pero se cree que son el resultado de las acciones de diversas citoquinas (incluido el factor de necrosis tumoral (TNF), los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF's), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante beta (TGFβ) involucrado en la proliferación de fibroblastos y la deposición de proteínas de la matriz extracelular (incluido el colágeno y la fibronectina), lo que da como resultado la alteración de la estructura y función del tejido y la patología subsecuente.

20 Un número de estudios preclínicos ha demostrado la sobrerregulación de los factores de crecimiento de fibroblastos en modelos preclínicos de fibrosis pulmonar. Se ha informado que el TGFβ1 y el PDGF están involucrados en el proceso fibrogénico y el trabajo publicado adicionalmente sugiere que la elevación de los FGF y el consiguiente aumento de la proliferación de fibroblastos puede ser en respuesta al aumento de TGFβ1. El beneficio terapéutico potencial de atacar el mecanismo fibrótico en condiciones como la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es sugerido por el efecto clínico reportado del agente antifibrótico pirfenidona. La fibrosis pulmonar idiopática (también conocida como alveolitis fibrosante criptogénica) es una condición progresiva que involucra la cicatrización del pulmón. Gradualmente, los sacos de aire de los pulmones se reemplazan por tejido fibrótico, que se vuelve más grueso, causando una pérdida irreversible de la capacidad del tejido para transferir oxígeno a la corriente sanguínea. Los síntomas de la condición incluyen dificultad para respirar, tos seca crónica, fatiga, dolor en el pecho y pérdida de apetito que resulta en una rápida pérdida de peso. La condición es extremadamente grave con aproximadamente 50% de mortalidad después de 5 años.

35 Como tales, los compuestos que inhiben el FGFR serán útiles para proporcionar un medio para prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis en tumores, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos serán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como los cánceres. En particular, los tumores con mutantes activadores de las tirosina quinasa receptoras (RTK) o la sobrerregulación de las tirosina quinasa receptoras pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores. Los pacientes con mutantes activadores de cualquiera de las isoformas de las RTK específicas analizadas en el presente documento también pueden encontrar que el tratamiento con inhibidores de la RTK es particularmente beneficioso, por ejemplo, pacientes con tumores, por ejemplo tumores de vejiga o cerebro, con translocación FGFR3-TACC3.

Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR)

45 Las enfermedades proliferativas crónicas frecuentemente se acompañan de una angiogénesis profunda, que puede contribuir a o mantener un estado inflamatorio y/o proliferativo, o que conduce a la destrucción del tejido a través de la proliferación invasiva de los vasos sanguíneos.

50 La angiogénesis se usa generalmente para describir el desarrollo de vasos sanguíneos nuevos o de reemplazo, o neovascularización. Es un proceso normal necesario y fisiológico mediante el cual se establece la vasculatura en el embrión. La angiogénesis no ocurre, en general, en la mayoría de los tejidos adultos normales, siendo las excepciones sitios de ovulación, menstruación y cicatrización de heridas. Muchas enfermedades, sin embargo, se caracterizan por una angiogénesis persistente y subregulada. Por ejemplo, en la artritis, los vasos sanguíneos capilares nuevos invaden la articulación y destruyen el cartílago. En la diabetes (y en muchas enfermedades oculares diferentes), los nuevos vasos invaden la mácula o la retina u otras estructuras oculares, y pueden causar ceguera. El proceso de aterosclerosis se ha relacionado con la angiogénesis. Se ha encontrado que el crecimiento del tumor y la metástasis son dependientes de la angiogénesis.

55 El reconocimiento de la participación de la angiogénesis en las enfermedades principales se ha acompañado de investigaciones para identificar y desarrollar inhibidores de la angiogénesis. Estos inhibidores se clasifican generalmente en respuesta a objetivos discretos en la cascada de angiogénesis, tal como la activación de células

endoteliales por una señal angiogénica; síntesis y liberación de enzimas degradativas; migración de células endoteliales; proliferación de células endoteliales; y formación de túbulos capilares. Por lo tanto, la angiogénesis ocurre en muchas etapas y se están realizando intentos para descubrir y desarrollar compuestos que trabajen para bloquear la angiogénesis en estas diferentes etapas.

- 5 Existen publicaciones que enseñan que los inhibidores de la angiogénesis, que funcionan mediante diversos mecanismos, son beneficiosos en enfermedades tal como el cáncer y la metástasis, las enfermedades oculares, la artritis y el hemangioma.

10 El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un polipéptido, es mitogénico para las células endoteliales in vitro y estimula las respuestas angiogénicas in vivo. VEGF también se ha relacionado con la angiogénesis inadecuada. VEGFR (s) son proteínas tirosina quinasas (PTK). Las PTK catalizan la fosforilación de residuos de tirosina específicos en proteínas involucradas en la función celular, regulando así el crecimiento celular, la supervivencia y la diferenciación.

15 Se han identificado tres receptores PTK para VEGF: VEGFR-1 (Flt-1); VEGFR-2 (Flk-1 o KDR) y VEGFR-3 (Flt-4). Estos receptores están involucrados en la angiogénesis y participan en la transducción de señales. De particular interés es VEGFR-2, que es un receptor transmembrana PTK expresado principalmente en células endoteliales. La activación de VEGFR-2 por VEGF es un paso crítico en la vía de transducción de señales que inicia la angiogénesis tumoral. La expresión de VEGF puede ser constitutiva de las células tumorales y también puede estar sobrerregulada en respuesta a ciertos estímulos. Uno de tales estímulos es la hipoxia, donde la expresión de VEGF se sobrerregula tanto en el tumor como en los tejidos del huésped asociados. El ligando de VEGF activa VEGFR-2 al unirse con su sitio de unión extracelular de VEGF. Esto conduce a la dimerización del receptor de los VEGFR y la autofosforilación de residuos de tirosina en el dominio de quinasa intracelular de VEGFR-2. El dominio de quinasa opera para transferir un fosfato de ATP a los residuos de tirosina, proporcionando así sitios de unión para las proteínas de señalización corriente abajo de VEGFR-2 que conducen en última instancia a la iniciación de la angiogénesis.

20 La inhibición en el sitio de unión del dominio quinasa de VEGFR-2 bloquearía la fosforilación de los residuos de tirosina y serviría para interrumpir el inicio de la angiogénesis.

25 La angiogénesis es un proceso fisiológico de la formación de nuevos vasos sanguíneos mediada por diversas citoquinas llamadas factores angiogénicos. Aunque su potencial papel fisiopatológico en los tumores sólidos ha sido ampliamente estudiado durante más de 3 décadas, el aumento de la angiogénesis en la leucemia linfocítica crónica (CLL) y otros trastornos hematológicos malignos se ha reconocido más recientemente. Un aumento del nivel de angiogénesis ha sido documentado por diversos métodos experimentales tanto en la médula ósea como en los ganglios linfáticos de pacientes con CLL. Aunque el papel de la angiogénesis en la fisiopatología de esta enfermedad aún no se ha dilucidado completamente, los datos experimentales sugieren que varios factores angiogénicos desempeñan un papel en la progresión de la enfermedad. También se demostró que los marcadores biológicos de la angiogénesis tienen relevancia pronóstica en la CLL. Esto indica que los inhibidores de VEGFR también pueden ser beneficiosos para pacientes con leucemia, tal como la CLL.

30 Para que una masa tumoral supere un tamaño crítico, debe desarrollar una vasculatura asociada. Se ha propuesto que direccionar una vasculatura tumoral limitaría la expansión del tumor y podría ser una terapia útil contra el cáncer. Las observaciones del crecimiento tumoral han indicado que pequeñas masas tumorales pueden persistir en un tejido sin ninguna vasculatura específica del tumor. La detención del crecimiento de tumores no vascularizados se ha atribuido a los efectos de la hipoxia en el centro del tumor. Más recientemente, una variedad de factores proangiogénicos y antiangiogénicos se identificaron y llevaron al concepto de "conmutador angiogénico", un proceso en el cual la interrupción de la relación normal de estímulos angiogénicos e inhibidores en una masa tumoral permite una vascularización autónoma. El interruptor angiogénico parece estar gobernado por las mismas alteraciones genéticas que conducen la conversión maligna: la activación de oncogenes y la pérdida de genes supresores de tumores. Varios factores de crecimiento actúan como reguladores positivos de la angiogénesis. Entre estos se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) y la angiogenina. Las proteínas como la trombospondina (Tsp-1), la angiostatina y la endostatina funcionan como reguladores negativos de la angiogénesis.

35 La inhibición de VEGFR2 pero no de VEGFR1 interrumpe notablemente la conmutación angiogénica, la angiogénesis persistente y el crecimiento inicial del tumor en un modelo de ratón. En los tumores en etapa tardía, surgió resistencia fenotípica al bloqueo de VEGFR2, ya que los tumores vuelven a crecer durante el tratamiento después de un período inicial de supresión del crecimiento. Esta resistencia al bloqueo de VEGF implica la reactivación de la angiogénesis tumoral, independiente de VEGF y asociada con la inducción mediada por hipoxia de otros factores proangiogénicos, incluidos los miembros de la familia FGF. Estas otras señales proangiogénicas están implicadas funcionalmente en la revascularización y el recrecimiento de tumores en la fase de evasión, ya que el bloqueo del FGF perjudica la progresión frente a la inhibición de VEGF.

40 Hay evidencia de normalización de los vasos sanguíneos de glioblastoma en pacientes tratados con un inhibidor de tirosina quinasa receptor de pan-VEGF, AZD2171, en un estudio de fase 2. La determinación por RMN de la

normalización de vasos en combinación con biomarcadores circulantes proporciona un medio efectivo para evaluar la respuesta a los agentes antiangiogénicos.

PDGFR

5 Un tumor maligno es el producto de la proliferación celular descontrolada. El crecimiento celular se controla mediante un delicado equilibrio entre los factores que promueven el crecimiento y los factores inhibidores del crecimiento. En el tejido normal, la producción y la actividad de estos factores dan como resultado el crecimiento de células diferenciadas de una manera controlada y regulada que mantiene la integridad normal y el funcionamiento del órgano. La célula maligna ha evadido este control; el equilibrio natural se altera (a través de una variedad de mecanismos) y se produce un crecimiento celular aberrante y subregulado. Un factor de crecimiento de importancia en el desarrollo de tumores es el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que comprende una familia de factores de crecimiento peptídicos que señalizan a través de los receptores de tirosina quinasa de la superficie celular (PDGFR) y estimulan diversas funciones celulares, incluido el crecimiento, la proliferación y la diferenciación.

Ventajas de un inhibidor selectivo.

15 El desarrollo de inhibidores de la FGFR quinasa con un perfil de selectividad diferenciada provee una nueva oportunidad para usar estos agentes direccionados en subgrupos de pacientes cuya enfermedad está impulsada por la desregulación de FGFR. Los compuestos que exhiben una acción inhibitoria reducida en las quinasas adicionales, particularmente VEGFR2 y PDGFR-beta, ofrecen la oportunidad de tener un perfil de efectos secundarios o toxicidad diferenciados y, como tal, permiten un tratamiento más efectivo de estas indicaciones. Los inhibidores de VEGFR2 y PDGFR-beta se asocian con toxicidades como hipertensión o edema, respectivamente. En el caso de los inhibidores de VEGFR2, este efecto hipertensivo frecuentemente limita la dosis, puede estar contraindicado en ciertas poblaciones de pacientes y requiere manejo clínico.

Actividad biológica y usos terapéuticos.

25 Los compuestos de la invención, y subgrupos de los mismos, tienen actividad inhibitoria o moduladora del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) y/o actividad inhibitoria o moduladora del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), y/o actividad inhibitoria o moduladora del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), y que será útil para prevenir o tratar estados de enfermedad o condiciones descritas en este documento. Además, los compuestos de la invención, y subgrupos de los mismos, serán útiles para prevenir o tratar enfermedades o condiciones mediadas por las quinasas. Las referencias a la prevención, la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de enfermedad tal como el cáncer incluyen, dentro de su alcance, aliviar o reducir la incidencia de cáncer.

35 Como se usa en el presente documento, el término "modulación", tal como se aplica a la actividad de una quinasa, pretende definir un cambio en el nivel de actividad biológica de la proteína quinasa. Por lo tanto, la modulación abarca cambios fisiológicos que producen un aumento o una disminución en la actividad de la proteína quinasa relevante. En este último caso, la modulación puede describirse como "inhibición". La modulación puede surgir directa o indirectamente, y puede estar mediada por cualquier mecanismo y en cualquier nivel fisiológico, incluido, por ejemplo, a nivel de expresión génica (incluyendo, por ejemplo, transcripción, traducción y/o modificación postraduccional), a nivel de expresión de genes que codifican elementos reguladores que actúan directa o indirectamente en los niveles de actividad de la quinasa. Por lo tanto, la modulación puede implicar una expresión elevada/suprimida o una sobreexpresión o subexpresión de una quinasa, incluida la amplificación de genes (es decir, múltiples copias de genes) y/o un aumento o disminución de la expresión por un efecto transcripcional, así como hiper-(o hipo-) actividad y (des) activación de las proteínas quinasa (incluida la (des)activación) por mutaciones. Los términos "modulado", "modulación" y "modular" deben interpretarse en consecuencia.

45 Como se usa en el presente documento, el término "mediado", como se usa, por ejemplo, en combinación con una quinasa como se describe en el presente documento (y se aplica, por ejemplo, a diversos procesos fisiológicos, enfermedades, estados, condiciones, terapias, tratamientos o intervenciones) tiene la intención de operar de manera limitativa para que los diversos procesos, enfermedades, estados, condiciones, tratamientos e intervenciones en los que se aplica el término son aquellos en los que la quinasa desempeña un papel biológico. En los casos en que el término se aplica a una enfermedad, estado o condición, el papel biológico desempeñado por una quinasa puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la manifestación de los síntomas de la enfermedad, estado o condición (o su etiología o progresión). Por lo tanto, la actividad de la quinasa (y en particular los niveles aberrantes de la actividad de la quinasa, por ejemplo, la sobreexpresión de la quinasa) no tiene por qué ser necesariamente la causa proximal de la enfermedad, estado o condición: más bien, se contempla que las enfermedades, estados o condiciones mediadas por la quinasa incluyen los que tienen etiologías multifactoriales y progresiones complejas en las que la quinasa en cuestión está solo parcialmente involucrada. En los casos en que el término se aplica al tratamiento, la profilaxis o la intervención, el papel desempeñado por la quinasa puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la operación del tratamiento, la profilaxis o el resultado de la intervención. Por lo tanto, un estado o condición de enfermedad mediadas por una quinasa incluye el desarrollo de resistencia a cualquier fármaco o tratamiento contra el cáncer en particular.

Así, por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser útiles para aliviar o reducir la incidencia de cáncer.

Más particularmente, los compuestos de las fórmulas (I) y subgrupos de los mismos son inhibidores de los FGFR. Por ejemplo, los compuestos de la invención tienen actividad contra FGFR1, FGFR2, FGFR3 y/o FGFR4, y en particular FGFRs seleccionados de FGFR1, FGFR2 y FGFR3; o, en particular, los compuestos de fórmula (I) y subgrupos de los mismos son inhibidores de FGFR4.

Los compuestos preferidos son compuestos que inhiben uno o más FGFR seleccionados de FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4. Los compuestos preferidos de la invención son aquellos que tienen valores de IC₅₀ inferiores a 0,1 µM.

Los compuestos de la invención también tienen actividad contra VEGFR.

Además, muchos de los compuestos de la invención muestran selectividad por el FGFR 1, 2 y/o 3, y/o 4 en comparación con VEGFR (en particular VEGFR2) y/o PDGFR y tales compuestos representan una realización preferida de la invención. En particular, los compuestos exhiben selectividad sobre VEGFR2. Por ejemplo, muchos compuestos de la invención tienen valores de IC₅₀ frente a FGFR1, 2 y/o 3 y/o 4 que están entre una décima y una centésima parte de la IC₅₀ frente a VEGFR (en particular VEGFR2) y/o PDGFR B. En particular, los compuestos preferidos de la invención tienen al menos 10 veces mayor actividad contra o inhibición de FGFR en particular FGFR1, FGFR2, FGFR3 y/o FGFR4 que VEGFR2. Más preferiblemente, los compuestos de la invención tienen al menos 100 veces mayor actividad contra o inhibición de FGFR en particular FGFR1, FGFR2, FGFR3 y/o FGFR4 que VEGFR2. Esto se puede determinar usando los métodos descritos aquí.

Como consecuencia de su actividad en la modulación o inhibición de las quinasas FGFR y/o VEGFR, los compuestos serán útiles para proporcionar un medio para prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis de las neoplasias, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos serán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como los cánceres. Además, los compuestos de la invención podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades en las que existe un trastorno de proliferación, apoptosis o diferenciación.

En particular, los tumores con mutantes activadores de VEGFR o la sobreexpresión de VEGFR y los pacientes con niveles elevados de lactato deshidrogenasa en suero pueden ser particularmente sensibles a los compuestos de la invención. Los pacientes con mutantes activadores de cualquiera de las isoformas de las RTK específicas discutidas aquí también pueden encontrar que el tratamiento con los compuestos de la invención es particularmente beneficioso. Por ejemplo, la sobreexpresión de VEGFR en células de leucemia aguda donde el progenitor clonal puede expresar VEGFR. Además, los tumores particulares con mutantes activadores o la sobreexpresión o la sobreexpresión de cualquiera de las isoformas de FGFR tales como FGFR1, FGFR2 o FGFR3 o FGFR4 pueden ser particularmente sensibles a los compuestos de la invención y, por lo tanto, los pacientes como se discuten en este documento con tales tumores particulares también pueden encontrar que el tratamiento con los compuestos de la invención es particularmente beneficioso. Puede preferirse que el tratamiento esté relacionado o dirigido a una forma mutada de una de las tirosina quinasas receptoras, tal como se describe en el presente documento. El diagnóstico de tumores con tales mutaciones se podría realizar utilizando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en este documento, tal como RTPCR y FISH.

Ejemplos de cánceres que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen, pero no se limitan a, un carcinoma, por ejemplo, un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo, carcinomas colorrectales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, urotelial, útero, epidermis, hígado, pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma, cáncer de pulmón de células pequeñas y carcinomas de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón escamoso), esófago, cabeza y cuello, vesícula biliar, ovario, páncreas (por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), estómago cáncer gastrointestinal (también conocido como gástrico) (por ejemplo, tumores del estroma gastrointestinal), cérvix, endometrio, tiroides, próstata o piel (por ejemplo, carcinoma de células escamosas o dermatofibrosarcoma protuberans); cáncer pituitario, un tumor hematopoyético de linaje linfocitoide, por ejemplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (por ejemplo, linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkett; un tumor hematopoyético de linaje mielocitoide, por ejemplo, leucemias, leucemias mielógenas agudas y crónicas, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), trastorno mieloproliferativo, síndrome mieloproliferativo, síndrome mielodisplásico o leucemia promielocítica; mieloma múltiple; cáncer folicular de la tiroides; cáncer hepatocelular, un tumor de origen mesenquimático (por ejemplo, sarcoma de Ewing), por ejemplo, fibrosarcoma o rhabdomyosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo, astrocitoma, neuroblastoma, glioma (TAL como glioblastoma multiforme) o schwannoma; melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xeroderma pigmentoso; queratocantoma; cáncer folicular de la tiroides; o el sarcoma de Kaposi. En particular, cáncer de pulmón escamoso, cáncer de mama, cáncer colorrectal, glioblastoma, astrocitomas, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de útero, cáncer gástrico, cáncer hepatocelular, cáncer de cuello uterino, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de endometrio, cáncer urotelial, cáncer de colon, rhabdomyosarcoma, cáncer de glándula pituitaria.

Ejemplos de cánceres que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen, entre otros, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer urotelial metastásico, cáncer urotelial no resecable quirúrgicamente, cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma de pulmón,

adenocarcinoma pulmonar, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cérvix, sarcoma de tejido blando, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas del esófago, adenocarcinoma del esófago, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular.

- 5 Ciertos cánceres son resistentes al tratamiento con fármacos particulares. Esto puede ser debido al tipo de tumor o puede surgir debido al tratamiento con el compuesto. En este sentido, las referencias a mieloma múltiple incluyen mieloma múltiple sensible a bortezomib o mieloma múltiple resistente al tratamiento. De manera similar, las referencias a la leucemia mielógena crónica incluyen la leucemia mielógena crónica sensible a imitanib y la leucemia mielógena crónica refractaria. La leucemia mielógena crónica también se conoce como leucemia mieloide crónica, leucemia granulocítica crónica o CML. Del mismo modo, la leucemia mielógena aguda, también se conoce como leucemia mieloblástica aguda, leucemia granulocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda o AML.

- 10 Los compuestos de la invención también se pueden usar en el tratamiento de enfermedades hematopoyéticas de proliferación celular anormal, ya sea premaligna o estable, tal como enfermedades mieloproliferativas. Las enfermedades mieloproliferativas ("MPD"s) son un grupo de enfermedades de la médula ósea en las que se producen células en exceso. Están relacionados y pueden evolucionar hacia el síndrome mielodisplásico. Las enfermedades mieloproliferativas incluyen policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria. Un trastorno hematológico adicional es el síndrome hipereosinofílico. Las enfermedades linfoproliferativas de células T incluyen aquellas derivadas de células asesinas naturales.

- 15 Además, los compuestos de la invención se pueden usar para el cáncer gastrointestinal (también conocido como gástrico), por ejemplo tumores del estroma gastrointestinal. El cáncer gastrointestinal se refiere a condiciones malignas del tracto gastrointestinal, que incluyen el esófago, el estómago, el hígado, el sistema biliar, el páncreas, los intestinos y el ano.

- 20 Por lo tanto, en las composiciones farmacéuticas, usos o métodos de esta invención para tratar una enfermedad o condición que comprende un crecimiento celular anormal, la enfermedad o condición que comprende un crecimiento celular anormal en una realización es un cáncer.

Los subconjuntos particulares de cánceres incluyen carcinoma de mieloma múltiple, vejiga, cérvix, próstata y tiroides, cáncer de pulmón, mama y colon.

Un subconjunto de cánceres incluye mieloma múltiple, vejiga, hepatocelular, carcinoma de células escamosas orales y carcinomas cervicales.

- 30 El compuesto de la invención, que tiene FGFR tal como la actividad inhibidora de FGFR1, puede ser particularmente útil en el tratamiento o la prevención del cáncer de mama en particular Carcinomas Lobulares Clásicos (CLC).

Como los compuestos de la invención tienen actividad de FGFR4, también serán útiles en el tratamiento de cánceres de próstata o pituitaria, o serán útiles en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de hígado (HCC) o cáncer de pulmón.

- 35 En particular, los compuestos de la invención como inhibidores de la FGFR, son útiles en el tratamiento del mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer colorrectal y carcinoma de células escamosas orales.

Subconjuntos adicionales de cáncer son el mieloma múltiple, cáncer de endometrio, cáncer de vejiga, cáncer cervical, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal y carcinomas de tiroides.

- 40 En particular, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de mieloma múltiple (en particular mieloma múltiple con translocación t(4; 14) o sobreexpresión de FGFR3), cáncer de próstata (carcinomas de próstata refractaria a la hormona), cáncer de endometrio (en particular tumores endometriales con mutaciones activadoras en FGFR2) y cáncer de mama (en particular cáncer de mama lobular).

- 45 En particular, los compuestos son útiles en el tratamiento de carcinomas lobulares tales como CLC (Carcinoma lobular clásico).

Como los compuestos tienen actividad contra el FGFR3, serán útiles en el tratamiento del mieloma múltiple y el cáncer de vejiga.

En particular, los compuestos tienen actividad contra tumores con translocación FGFR3-TACC3, en particular tumores de vejiga o cerebro con translocación FGFR3-TACC3.

- 50 En particular, los compuestos son útiles para el tratamiento del mieloma múltiple positivo por translocación t(4; 14).

En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento del sarcoma. En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, por ejemplo carcinoma de células escamosas.

Como los compuestos tienen actividad contra el FGFR2, serán útiles en el tratamiento de los cánceres endometriales, ováricos, gástricos, hepatocelulares, uterinos, cervicales y colorrectales. FGFR2 también se sobreexpresa en el cáncer de ovario epitelial, por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser específicamente útiles para tratar el cáncer de ovario, tal como el cáncer de ovario epitelial.

- 5 En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, en particular NSCLC, carcinoma de células escamosas, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de próstata.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de tumores pre-tratados con inhibidor de VEGFR2 o anticuerpo VEGFR2 (por ejemplo, Avastin).

- 10 En particular, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de tumores resistentes a VEGFR2. Los inhibidores de VEGFR2 y los anticuerpos se usan en el tratamiento de carcinomas de células tiroideas y renales, por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de carcinomas de células renales y tiroides resistentes a VEGFR2.

- 15 Los cánceres pueden ser cánceres que son sensibles a la inhibición de uno o más FGFR seleccionados de FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, por ejemplo, uno o más FGFR seleccionados de FGFR1, FGFR2 o FGFR3.

Si un cáncer en particular es o no sensible a la inhibición de la señalización de FGFR o VEGFR se puede determinar por medio de un ensayo de crecimiento celular como se establece a continuación o por un método como se describe en la sección titulada "Métodos de diagnóstico".

- 20 Los compuestos de la invención, y en particular los compuestos que tienen actividad inhibidora de FGFR, o VEGFR, pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o prevención de cánceres de un tipo asociado con o caracterizado por la presencia de niveles elevados de FGFR, o VEGFR, para por ejemplo, los cánceres mencionados en este contexto en la sección de introducción de esta solicitud.

Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de la población adulta. Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de la población pediátrica.

- 25 Se ha descubierto que algunos inhibidores de FGFR se pueden usar en combinación con otros agentes anticancerosos. Por ejemplo, puede ser beneficioso combinar un inhibidor que induzca la apoptosis con otro agente que actúe a través de un mecanismo diferente para regular el crecimiento celular y tratar dos de los rasgos característicos del desarrollo del cáncer. Ejemplos de tales combinaciones se exponen a continuación.

- 30 Los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de otras condiciones que resultan de trastornos en la proliferación tales como diabetes mellitus tipo II o no dependiente de insulina, enfermedades autoinmunes, traumatismo craneoencefálico, apoplejía, epilepsia, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de neurona motora de Alzheimer, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal y enfermedad de Pick, por ejemplo, enfermedades autoinmunes y enfermedades neurodegenerativas.

- 35 Un subgrupo de estados y condiciones de enfermedad en los que los compuestos de la invención pueden ser útiles consiste en enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares y curación de heridas.

- 40 También se sabe que FGFR y VEGFR desempeñan un papel en la apoptosis, angiogénesis, proliferación, diferenciación y transcripción y, por lo tanto, los compuestos de la invención también podrían ser útiles en el tratamiento de las siguientes enfermedades distintas del cáncer; enfermedades inflamatorias crónicas, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis autoinmune mediada, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus autoinmune, reacciones de hipersensibilidad al eccema, asma, COPD, rinitis y enfermedad del tracto respiratorio superior; enfermedades cardiovasculares, por ejemplo hipertrofia cardíaca, reestenosis, aterosclerosis; trastornos neurodegenerativos, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, demencia relacionada con el SIDA, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, retinitis pigmentosa, atrofia muscular espinal y degeneración cerebelosa; glomerulonefritis; Síndromes mielodisplásicos, lesiones isquémicas asociadas con infartos de miocardio, lesiones por apoplejía y reperfusión, arritmias, aterosclerosis, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol o inducidas por toxinas, enfermedades hematológicas, por ejemplo, anemia crónica y anemia aplásica; enfermedades degenerativas del sistema musculoesquelético, por ejemplo, osteoporosis y artritis, rinosinusitis sensible a la aspirina, fibrosis quística, esclerosis múltiple, enfermedades renales y dolor por cáncer.

- 50 Además, las mutaciones de FGFR2 están asociadas con varias anomalías graves en el desarrollo del esqueleto humano y, por lo tanto, los compuestos de la invención podrían ser útiles en el tratamiento de anomalías en el desarrollo del esqueleto humano, incluida la osificación anormal de las suturas craneales (craneosinostosis), síndrome de Apert (AP), Síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de Beare-Stevenson cutis gyrate y síndrome de Pfeiffer.

El compuesto de la invención, que tiene FGFR tal como la actividad inhibidora de FGFR2 o FGFR3, puede ser particularmente útil en el tratamiento o prevención de las enfermedades esqueléticas. Las enfermedades esqueléticas particulares son la acondroplasia o el enanismo tanatofórico (también conocido como displasia tanatofórica).

5 El compuesto de la invención, que tiene FGFR tal como la actividad inhibidora de FGFR1, FGFR2 o FGFR3, puede ser particularmente útil en el tratamiento o prevención en patologías en las que la fibrosis progresiva es un síntoma. Las condiciones fibróticas en las que los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento incluyen enfermedades que presentan una deposición anormal o excesiva de tejido fibroso, por ejemplo, en cirrosis hepática, glomerulonefritis, fibrosis pulmonar, fibrosis sistémica, artritis reumatoide, así como el proceso natural de cicatrización de la herida. En particular, los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de la fibrosis pulmonar, en particular en la fibrosis pulmonar idiopática.

10 La sobreexpresión y activación de FGFR y VEGFR en la vasculatura asociada a tumores también ha sugerido un papel para los compuestos de la invención en la prevención y la interrupción del inicio de la angiogénesis tumoral. En particular, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, metástasis, leucemias tales como CLL, enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad en particular forma húmeda de degeneración macular relacionada con la edad, retinopatías proliferativas isquémicas tales como retinopatía prematuridad (ROP) y retinopatía diabética, artritis reumatoide y hemangioma.

15 La actividad de los compuestos de la invención como inhibidores de FGFR1-4, VEGFR y/o PDGFR A/B se puede medir usando los ensayos que se exponen en los ejemplos a continuación y el nivel de actividad mostrado por un compuesto dado se puede definir en términos del valor IC₅₀. Los compuestos preferidos de la presente invención son compuestos que tienen un valor de IC₅₀ inferior a 1 μM, más preferiblemente inferior a 0,1 μM.

20 La invención proporciona compuestos que tienen actividad inhibidora o moduladora de FGFR, y que pueden ser útiles para prevenir o tratar estados de enfermedad o condiciones mediadas por quinasas FGFR. En una realización, se proporciona un compuesto como se define en el presente documento para uso en terapia, para uso como un medicamento. En una realización adicional, se proporciona un compuesto como se define en el presente documento para uso en la profilaxis o tratamiento, en particular en el tratamiento, de un estado o condición de enfermedad mediada por una FGFR quinasa.

25 Así, por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser útiles para aliviar o reducir la incidencia de cáncer. Por lo tanto, en una realización adicional, se proporciona un compuesto como se define en el presente documento para uso en la profilaxis o tratamiento, en particular el tratamiento, del cáncer. En una realización, el compuesto como se define en este documento es para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer dependiente de FGFR. En una realización, el compuesto como se define en el presente documento es para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer mediado por quinasas FGFR.

En consecuencia, se describe entre otras cosas:

35 Un método para la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediado por una FGFR quinasa, método que comprende administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto de la fórmula (I) como se define aquí.

Un método para la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de la enfermedad como se describe en el presente documento, método que comprende administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto de la fórmula (I) como se define en el presente documento.

40 Un método para la profilaxis o el tratamiento del cáncer, método que comprende administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto de la fórmula (I) como se define en el presente documento.

Un método para aliviar o reducir la incidencia de un estado o condición de enfermedad mediada por una FGFR quinasa, método que comprende administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto de la fórmula (I) como se define en el presente documento.

45 Un método para inhibir una FGFR quinasa, método que comprende poner en contacto la quinasa con un compuesto inhibidor de la quinasa de fórmula (I) como se define aquí.

Un método para modular un proceso celular (por ejemplo, la división celular) mediante la inhibición de la actividad de una FGFR quinasa utilizando un compuesto de la fórmula (I) como se define aquí.

Un compuesto de fórmula (I) como se define aquí para uso como modulador de un proceso celular (por ejemplo, división celular) mediante la inhibición de la actividad de una FGFR quinasa.

50 Un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer, en particular el tratamiento del cáncer.

Un compuesto de fórmula (I) como se define aquí para uso como un modulador (por ejemplo, un inhibidor) de FGFR.

El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediada por una FGFR quinasa, el compuesto que tiene la fórmula (I) como se define en el presente documento.

5 El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de la enfermedad como se describe en el presente documento.

El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento, en particular el tratamiento, del cáncer.

10 El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define aquí para la fabricación de un medicamento para modular (por ejemplo, inhibir) la actividad de FGFR.

Uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento en la fabricación de un medicamento para modular un proceso celular (por ejemplo, la división celular) mediante la inhibición de la actividad de una FGFR quinasa.

15 El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad o condición caracterizada por la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4).

El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un cáncer, siendo el cáncer uno que se caracteriza por la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2). FGFR3 o FGFR4.

20 El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado de una subpoblación que posee una aberración genética de la FGFR quinasa3.

25 El uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente que ha sido diagnosticado como parte de una subpoblación que posee una aberración genética de la FGFR quinasa3.

Un método para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad o condición caracterizada por la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4), que comprende administrar un compuesto de la fórmula (I) como se define aquí.

30 Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o condición caracterizada por la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4), que comprende administrar un compuesto de la fórmula (I) como se define aquí.

35 Un método para la profilaxis o el tratamiento de (o aliviar o reducir la incidencia de) cáncer en un paciente que padece o se sospecha que padece cáncer; el método que comprende (i) someter a un paciente a una prueba diagnóstica para determinar si el paciente posee aberraciones genéticas del gen FGFR3; y (ii) cuando el paciente posee dicha variante, subsecuentemente administrar al paciente un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento que tiene actividad inhibitoria de la FGFR quinasa3.

40 Un método para la profilaxis o el tratamiento de (o aliviar o reducir la incidencia de) un estado o condición de enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4); dicho método comprende (i) someter a un paciente a una prueba de diagnóstico para detectar un marcador característico de la sobreexpresión de una FGFR quinasa (por ejemplo, FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4) y (ii) donde la prueba de diagnóstico es indicativa de una sobreexpresión de una quinasa de FGFR, administrando subsecuentemente al paciente un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento que tiene actividad inhibitoria de quinasa de FGFR.

45 En una realización, la enfermedad mediada por las quinasa FGFR es una enfermedad relacionada con la oncología (por ejemplo, cáncer). En una realización, la enfermedad mediada por las quinasa FGFR es una enfermedad no relacionada con oncología (por ejemplo, cualquier enfermedad divulgada en el presente documento que excluye el cáncer). En una realización, la enfermedad mediada por quinasa FGFR es una condición descrita en el presente documento. En una realización, la enfermedad mediada por las quinasa FGFR es una condición esquelética descrita en el presente documento. Las anomalías particulares en el desarrollo esquelético humano incluyen la osificación anormal de las suturas craneales (craneosinostosis), el síndrome de Apert (AP), el síndrome de Crouzon, el síndrome de Jackson-Weiss, el síndrome de Beare-Stevenson cutis gyrate, el síndrome de Pfeiffer, la acondroplasia y el enanismo tanatóforico (también conocido como tanatoforismo). displasia).

50 Quinasas mutadas

- Pueden surgir mutaciones de quinasa resistentes a los fármacos en poblaciones de pacientes tratados con inhibidores de la quinasa. Estos ocurren, en parte, en las regiones de la proteína que se unen o interactúan con el inhibidor particular utilizado en la terapia. Tales mutaciones reducen o aumentan la capacidad del inhibidor para unirse e inhibir la quinasa en cuestión. Esto puede ocurrir en cualquiera de los residuos de aminoácidos que interactúan con el inhibidor o son importantes para apoyar la unión de dicho inhibidor al objetivo. Un inhibidor que se une a una quinasa objetivo sin requerir la interacción con el residuo de aminoácido mutado probablemente no se verá afectado por la mutación y seguirá siendo un inhibidor efectivo de la enzima.
- Un estudio en muestras de pacientes con cáncer gástrico mostró la presencia de dos mutaciones en FGFR2, Ser167Pro en el exón IIIa y una mutación en el sitio de empalme 940-2A-G en el exón IIIc. Estas mutaciones son idénticas a las mutaciones activadoras de la línea germinal que causan los síndromes de craneosinotosis y se observaron en el 13% de los tejidos de cáncer gástrico primario estudiados. Además, se observaron mutaciones de activación en FGFR3 en el 5% de las muestras de pacientes analizadas y la sobreexpresión de FGFR se ha correlacionado con un mal pronóstico en este grupo de pacientes.
- Además, hay translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales que se han observado en FGFR que dan lugar a estados biológicos de ganancia de función, sobreexpresado o constitutivamente activos.
- Los compuestos de la invención, por lo tanto, encontrarían una aplicación particular en relación con los cánceres que expresan una diana molecular mutada tal como FGFR. El diagnóstico de tumores con tales mutaciones se podría realizar utilizando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en este documento, tal como RTPCR y FISH.
- Se ha sugerido que las mutaciones de un residuo de treonina conservado en el sitio de unión a ATP de FGFR darían como resultado resistencia a los inhibidores. El aminoácido valina 561 ha sido mutado a una metionina en FGFR1 que corresponde a las mutaciones reportadas previamente encontradas en Abl (T315) y EGFR (T766) que se ha demostrado que confieren resistencia a los inhibidores selectivos. Los datos del ensayo para FGFR1 V561M mostraron que esta mutación confiere resistencia a un inhibidor de la tirosina quinasa en comparación con la del tipo silvestre.
- Metodos de diagnóstico**
- Antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), un paciente puede someterse a un examen para determinar si una enfermedad o condición que el paciente padece o puede estar sufriendo es una que sea susceptible de tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra el FGFR. y/o VEGFR.
- Por ejemplo, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para determinar si una condición o enfermedad, tal como el cáncer, que el paciente padece o puede padecer es una que se caracteriza por una anomalía genética o una expresión proteica anormal que conduce a sobreexpresión de los niveles o actividad de FGFR, y/o VEGFR o a la sensibilización de una vía a la actividad de FGFR y/o de VEGFR normal, o a la sobreexpresión de estas vías de señalización del factor de crecimiento, tal como los niveles de ligando del factor de crecimiento o la actividad del ligando del factor de crecimiento o para la sobreexpresión de una ruta bioquímica corriente abajo de activación de FGFR, y/o de VEGFR.
- Ejemplos de tales anomalías que resultan en la activación o sensibilización de la señal de FGFR y/o de VEGFR incluyen la pérdida de, o inhibición de las vías apoptóticas, la sobreexpresión de los receptores o ligandos, o la presencia de variantes mutantes de los receptores o ligandos, por ejemplo, variantes de PKC. Los tumores con mutantes de FGFR1, FGFR2 o FGFR3 o FGFR4 o sobreexpresión, en particular la sobreexpresión de FGFR1, o mutantes de ganancia de función de FGFR2 o FGFR3 pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de FGFR.
- Por ejemplo, las mutaciones puntuales que engendran la ganancia de función en FGFR2 se han identificado en varias condiciones. En particular, se han identificado mutaciones de activación en FGFR2 en el 10% de los tumores endometriales.
- Además, se identificaron aberraciones genéticas de la tirosina quinasa del receptor de FGFR3, tales como translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales que resultan en receptores de FGFR3 expresados ectópicamente o desregulados, constitutivamente activos, y están vinculados a un subconjunto de mielomas múltiples, carcinomas de vejiga y cervicales. Se ha identificado una mutación particular T674I del receptor de PDGF en pacientes tratados con imatinib. Además, se demostró una amplificación génica de 8p12-p11.2 en aproximadamente el 50% de los casos de cáncer de mama lobular (CLC) y se demostró que esto estaba relacionado con un aumento de la expresión de FGFR1. Los estudios preliminares con ARNs dirigidos contra FGFR1, o una pequeña molécula inhibidora del receptor, mostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización.
- Alternativamente, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para detectar la pérdida de un regulador negativo o supresor de FGFR o VEGFR. En el presente contexto, el término "pérdida" abarca la eliminación de un gen que codifica el regulador o supresor, el truncamiento del gen (por ejemplo, por mutación), el truncamiento

del producto transcrito del gen, o la inactivación del transcrito. Producto (por ejemplo, por mutación puntual) o secuestro por otro producto genético.

El término *sobrerregulación* incluye expresión elevada o *sobreexpresión*, incluida la *amplificación* de genes (es decir, múltiples copias de genes) y expresión aumentada por un efecto transcripcional, e hiperactividad y activación, incluida la activación por mutaciones. Por lo tanto, el paciente puede someterse a una prueba de diagnóstico para detectar un marcador característico de la *sobrerregulación* de FGFR y/o VEGFR. El término diagnóstico incluye la detección. Por marcador se incluyen marcadores genéticos que incluyen, por ejemplo, la medición de la composición del ADN para identificar mutaciones de FGFR y/o VEGFR. El término marcador también incluye marcadores que son característicos de la *sobrerregulación* de FGFR y/o VEGFR, que incluyen la actividad enzimática, los niveles enzimáticos, el estado enzimático (por ejemplo, fosforilado o no) y los niveles de ARNm de las proteínas mencionadas anteriormente.

Las pruebas de diagnóstico y las detecciones se realizan típicamente en una muestra biológica seleccionada de muestras de biopsia de tumor, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de células tumorales desprendidas), biopsias de heces, esputo, análisis de cromosomas, líquido pleural, líquido peritoneal, lanzas bucales, biopsia u orina.

Los expertos en la técnica conocen los métodos de identificación y análisis de mutaciones y regulación de proteínas. Los métodos de selección podrían incluir, entre otros, métodos estándar, tales como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) o la hibridación *in situ*, tal como la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

La identificación de un individuo portador de una mutación en FGFR y/o VEGFR puede significar que el paciente sería particularmente adecuado para el tratamiento con un inhibidor de FGFR y/o de VEGFR. Los tumores pueden ser examinados preferencialmente para detectar la presencia de una variante de FGFR y/o VEGFR antes del tratamiento. El proceso de selección típicamente involucrará secuenciación directa, análisis de microarreglos de oligonucleótidos o un anticuerpo específico mutante. Además, el diagnóstico de tumores con tales mutaciones podría realizarse utilizando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en este documento, tal como RT-PCR y FISH.

Además, las formas mutantes de, por ejemplo, FGFR o VEGFR2, se pueden identificar mediante secuenciación directa de, por ejemplo, biopsias de tumores usando PCR y métodos para secuenciar productos de PCR directamente como se describió anteriormente. El experto en la técnica reconocerá que todas las técnicas bien conocidas para la detección de la *sobreexpresión*, *activación* o mutaciones de las proteínas mencionadas anteriormente podrían ser aplicables en el presente caso.

En la selección por RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm seguida de la *amplificación* del ADNc por PCR. Los expertos en la técnica conocen los métodos de *amplificación* por PCR, la selección de cebadores y las condiciones para la *amplificación*. Las manipulaciones de ácido nucleico y la PCR se llevan a cabo mediante métodos estándar, tal como se describe, por ejemplo, en Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., o Innis, M.A. et al., eds. (1990) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que involucran técnicas de ácido nucleico también se describen en Sambrook et al., (2001), 3ª edición, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativamente, se puede usar un kit disponible comercialmente para RT-PCR (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals), o la metodología como se establece en las patentes de los Estados Unidos 4.666.828; 4,683,202; 4.801.531; 5.192.659, 5.272.057, 5.882.864 y 6.218.529. Un ejemplo de una técnica de hibridación *in situ* para evaluar la expresión del ARNm sería la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) (véase Angerer (1987) *Meth. Enzymol.*, 152: 649).

En general, la hibridación *in situ* comprende los siguientes pasos principales: (1) fijación del tejido a analizar; (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico diana y para reducir la unión no específica; (3) hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos con el ácido nucleico en la estructura biológica o tejido; (4) lavados posteriores a la hibridación para eliminar los fragmentos de ácido nucleico no unidos a la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridados. Las sondas utilizadas en tales aplicaciones suelen estar etiquetadas, por ejemplo, con radioisótopos o informadores fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo, desde aproximadamente 50, 100 o 200 nucleótidos hasta aproximadamente 1000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con los ácidos nucleicos diana bajo condiciones rigurosas. Los métodos estándar para llevar a cabo FISH se describen en Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc and *Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview* by John M. S. Bartlett en *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2nd ed.; ISBN: 1-59259-760-2; March 2004, pps. 077-088; Series: *Methods in Molecular Medicine*.

Los métodos para el perfil de expresión génica se describen en (DePrimo et al. (2003), *BMC Cancer*, 3: 3). En resumen, el protocolo es el siguiente: el ADNc de doble cadena se sintetiza a partir del ARN total utilizando un oligómero (dT)₂₄ para cebar la síntesis de ADNc de primera cadena, seguido de la síntesis de ADNc de segunda cadena con cebadores hexaméricos aleatorios. El ADNc de doble cadena se utiliza como plantilla para la transcripción *in vitro* de ARNc utilizando ribonucleótidos biotinilados. El ARNc se fragmenta químicamente de acuerdo con los protocolos descritos por Affymetrix (Santa Clara, CA, EE. UU.) y luego se hibrida durante la noche en Arreglos de Genoma Humano.

- Alternativamente, los productos proteicos expresados a partir de los ARNm pueden analizarse mediante inmunohistoquímica de muestras de tumores, inmunoensayos en fase sólida con placas de microtitulación, transferencia Western, electroforesis en gel bidimensional de SDS-poliacrilamida, ELISA, citometría de flujo y otros métodos conocidos en la técnica para la detección de proteínas específicas. Los métodos de detección incluirían el uso de anticuerpos específicos del sitio. La persona experta reconocerá que todas las técnicas bien conocidas para la detección de la sobreexpresión de FGFR y/o VEGFR, o la detección de FGFR, y/o variantes o mutantes de VEGFR podrían ser aplicables en el presente caso.
- Los niveles anormales de proteínas tales como FGFR o VEGFR se pueden medir utilizando ensayos enzimáticos estándar, por ejemplo, los ensayos descritos en este documento. La activación o la sobreexpresión también podrían detectarse en una muestra de tejido, por ejemplo, un tejido tumoral. Midiendo la actividad de la tirosina quinasa con un ensayo como el de Chemicon International. La tirosina quinasa de interés se inmunoprecipitaría del lisado de muestra y se mediría su actividad.
- Los métodos alternativos para la medición de la sobreexpresión o activación de FGFR o VEGFR, incluidas las isoformas de las mismas, incluyen la medición de la densidad de microvasos. Esto se puede medir, por ejemplo, utilizando los métodos descritos por Orre y Rogers (Int J Cancer (1999), 84 (2) 101-8). Los métodos de ensayo también incluyen el uso de marcadores, por ejemplo, en el caso de VEGFR, estos incluyen CD31, CD34 y CD105.
- Por lo tanto, todas estas técnicas también podrían usarse para identificar tumores particularmente adecuados para el tratamiento con los compuestos de la invención.
- Los compuestos de la invención son particularmente útiles en el tratamiento de un paciente que tiene un FGFR mutado. La mutación G697C en FGFR3 se observa en el 62% de los carcinomas de células escamosas orales y provoca la activación constitutiva de la actividad de la quinasa. Las mutaciones de activación de FGFR3 también se han identificado en casos de carcinoma de vejiga. Estas mutaciones fueron de 6 tipos con diferentes grados de prevalencia: R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q. Además, se ha encontrado que un polimorfismo Gly388Arg en FGFR4 está asociado con una mayor incidencia y agresividad de la próstata, colon, pulmón, hígado (HCC) y cáncer de mama. Los compuestos de la invención son particularmente útiles en el tratamiento de un paciente que tiene una translocación FGFR3-TACC3.
- Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención incluye el uso de un compuesto de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de un estado o condición de enfermedad en un paciente que ha sido examinado y se ha determinado que padece, o está en riesgo de padecer una enfermedad o condición que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra el FGFR.
- Las mutaciones particulares en las que se analiza a un paciente incluyen las mutaciones G697C, R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q en FGFR3 y polimorfismo de Gly388Arg en FGFR4.
- En otro aspecto, la invención incluye un compuesto de la invención para su uso en la profilaxis o tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado de una subpoblación que posee una variante del gen FGFR (por ejemplo, mutación G697C en FGFR3 y polimorfismo de Gly388Arg en FGFR4).
- La determinación de MRI de la normalización de los vasos (por ejemplo, usando eco gradiente de MRI, eco rotación y mejora del contraste para medir el volumen sanguíneo, el tamaño relativo del vaso y la permeabilidad vascular) en combinación con biomarcadores circulantes (células progenitoras circulantes (CPC), CEC, SDF1 y FGF2) también se puede usar para identificar tumores resistentes a VEGFR2 para el tratamiento con un compuesto de la invención.
- 40 Composiciones farmacéuticas y combinaciones**
- En vista de sus propiedades farmacológicas útiles, los compuestos objeto pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para fines de administración.
- En una realización, la composición farmacéutica (por ejemplo, formulación) comprende al menos un compuesto activo de la invención junto con uno o más vehículos, adyuvantes, excipientes, diluyentes, agentes de relleno, reguladores, estabilizantes, conservantes, lubricantes u otros materiales farmacéuticamente aceptables, bien conocidos por aquellos expertos en la técnica y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos.
- Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, como el ingrediente activo, se combina en una mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, cuyo vehículo puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para administración oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración por vía oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales

como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y tabletas.

Debido a su facilidad de administración, las tabletas y las cápsulas representan la forma de unidad de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el vehículo usualmente comprenderá agua estéril, al menos en gran parte, aunque pueden incluirse otros ingredientes para ayudar a la solubilidad, por ejemplo. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las que el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, aditivos que no causan un efecto perjudicial importante para la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de varias maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, como un punto de aplicación, como una pomada. Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de unidades de dosificación son tabletas (incluyendo tabletas marcadas o recubiertas), cápsulas, píldoras, paquetes en polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y los múltiples segregados de los mismos.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de unidades de dosificación son tabletas (incluyendo tabletas marcadas o recubiertas), cápsulas, píldoras, paquetes en polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y los múltiples segregados de los mismos.

El compuesto de la invención se administra en una cantidad suficiente para ejercer su actividad antitumoral.

Los expertos en la técnica podrían determinar fácilmente la cantidad efectiva a partir de los resultados de la prueba que se presentan a continuación. En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva sería de 0,005 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y en particular de 0,005 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida como dosis únicas, dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen de 0,5 a 500 mg, en particular de 1 mg a 500 mg, más en particular de 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá preferiblemente de 0,05 a 99% en peso, más preferiblemente de 0,1 a 70% en peso, incluso más preferiblemente de 0,1 a 50% en peso del compuesto de la presente invención, y , de 1 a 99,95% en peso, más preferiblemente de 30 a 99,9% en peso, incluso más preferiblemente de 50 a 99,9% en peso de un vehículo farmacéuticamente aceptable, estando basados todos los porcentajes en el peso total de la composición.

Como otro aspecto de la presente invención, se contempla una combinación de un compuesto de la presente invención con otro agente anticanceroso, especialmente para uso como medicamento, más específicamente para uso en el tratamiento de cáncer o enfermedades relacionadas.

Para el tratamiento de las condiciones anteriores, los compuestos de la invención pueden emplearse ventajosamente en combinación con uno o más agentes medicinales, más particularmente, con otros agentes o adyuvantes anticáncer en la terapia del cáncer. Ejemplos de agentes o adyuvantes contra el cáncer (agentes de apoyo en la terapia) incluyen pero no se limitan a:

compuestos de coordinación de platino, por ejemplo, cisplatino opcionalmente combinado con amifostina, carboplatino u oxaliplatino;

compuestos de taxano, por ejemplo, paclitaxel, partículas unidas a proteína de paclitaxel (Abraxane™) o docetaxel;

inhibidores de topoisomerasa I tales como compuestos de camptotecina, por ejemplo irinotecan, SN-38, topotecan, topotecan hcl;

inhibidores de la topoisomerasa II, tales como epipodofilotoxinas antitumorales o derivados de podofilotoxinas, por ejemplo, etopósido, etopósido fosfato o tenipósido;

- alcaloides de la vinca antitumorales, por ejemplo, vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales, por ejemplo, 5-fluorouracilo, leucovorina, gemcitabina, gemcitabina hcl, capecitabina, cladribina, fludarabina, nelarabina;
- 5 agentes alquilantes tal como la mostaza nitrogenada o nitrosourea, por ejemplo, ciclofosfamida, clorambucil, carmustina, tiotepa, mepalan (melfalán), lomustina, altretamina, busulfán, dacarbazina, estramustina, ifosfamida opcionalmente en combinación con mesna, pipobroman, procarbazona, estreptozocina, telozolomida, uracilo;
- derivados antitumorales de antraciclina, por ejemplo, daunorubicina, doxorubicina opcionalmente en combinación con dexrazoxano, doxil, idarubicina, mitoxantrona, epirubicina, epirubicina hcl, valrubicina;
- moléculas que se dirigen al receptor de IGF-1, por ejemplo picropodofilina;
- 10 derivados de tetracarcina, por ejemplo, tetrocarcina A;
- glucocorticoides, por ejemplo, prednisona;
- anticuerpos, por ejemplo, trastuzumab (anticuerpo HER2), rituximab (anticuerpo CD20), gemtuzumab, gemtuzumab ozogamicina, cetuximab, pertuzumab, bevacizumab, alemtuzumab, eculizumab, ibritumomab tiuxetan, nofetumomab, panitumumab, tositumomab, CNTO 328.
- 15 antagonistas del receptor de estrógeno o moduladores selectivos del receptor de estrógeno o inhibidores de la síntesis de estrógeno, por ejemplo, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex, raloxifeno o letrozol;
- inhibidores de la aromatasas tales como exemestano, anastrozol, letrozol, testolactona y vorozol;
- agentes diferenciadores tales como retinoides, vitamina D o ácido retinoico y agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo, accutane;
- 20 Inhibidores de la ADN metil transferasa, por ejemplo, azacitidina o decitabina;
- antifolatos, por ejemplo, disodio premetexado;
- antibióticos, por ejemplo, antinomicina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomicina, carminomicina, daunomicina, levamisol, plicamicina, mitramicina;
- 25 antimetabolitos, por ejemplo, clofarabina, aminopterina, arabinósido de citosina o metotrexato, azacitidina, citarabina, floxuridina, pentostatina, tioguanina;
- agentes inductores de apoptosis y agentes antiangiogénicos tales como inhibidores de Bcl-2, por ejemplo YC 137, BH 312, ABT 737, gosipol, HA 14-1, TW 37 o ácido decanoico;
- agentes de unión a tubulina, por ejemplo, combrestatina, colchicinas o nocodazol;
- 30 inhibidores de la quinasa (por ejemplo, inhibidores de EGFR (receptor del factor de crecimiento epitelial), MTKI (inhibidores de la quinasa objetivo múltiple), inhibidores de mTOR, inhibidores de cmet), por ejemplo flavoperidol, mesilato de imatinib, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, lapatinib ditosylate, sorafenib, sunitinib, sunitinib maleate, temsirolimus, 6- {difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)]1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil}quinolina o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo, 6-[difluoro (6-piridin-4-il [1,2,4] triazolo [4,3-b] piridazin-3-il) metil] quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
- 35 inhibidores de la farnesiltransferasa, por ejemplo, tipifarnib;
- inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC), por ejemplo, butirato de sodio, ácido suberoylanilida hidroxamida (SAHA), depsipéptido (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, tricoestatina A, vorinostat;
- Inhibidores de la vía de la ubiquitina-proteasoma, por ejemplo, PS-341, MLN .41 o bortezomib;
- Yondelis;
- 40 Inhibidores de la telomerasa, por ejemplo, telomestatina;
- Inhibidores de la metaloproteinasas de la matriz, por ejemplo batimastat, marimastat, prinostat o metastat.
- Interleucinas recombinantes, por ejemplo, aldesleucina, denileucina difitox, interferón alfa 2a, interferón alfa 2b, peginterferón alfa 2b
- Inhibidores de MAPK
- 45 Retinoides, por ejemplo, alitretinoína, bexaroteno, tretinoína

Trióxido de arsénico

Asparaginasa

Esteroides, por ejemplo, propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), dexametasona

- 5 Agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina, por ejemplo, abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida.

Talidomida, lenalidomide

Mercaptopurina, mitotano, pamidronato, pegademase, pegaspargase, rasburicase

BH3 miméticos, por ejemplo, ABT-737

- 10 Inhibidores de MEK, por ejemplo, PD98059, AZD6244, CI-1040

análogos del factor estimulante de colonias, por ejemplo, filgrastim, pegfilgrastim, sargramostim; eritropoyetina o análogos de los mismos (por ejemplo, darbepoetin alfa); interleucina 11; oprelvekin; zoledronato, ácido zoledrónico; fentanilo; bifosfonato; palifermin.

- 15 un inhibidor de 17 alfa-hidroxilasa-17,20-liasa de citocromo P450 esteroideo (CYP17), por ejemplo abiraterona, acetato de abiraterona.

En una realización, la presente invención se refiere a una combinación de un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o cualquier subgrupo y ejemplos del mismo, y 6-{difluoro[6-(1- metil-1H-pirazol-4-il) [1,2,4] triazolo [4,3-b] piridazin-3-il] metil} quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 20 En una realización, la presente invención se relaciona con una combinación de un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o cualquier subgrupo y ejemplos del mismo, y 6-[difluoro(6-piridin-4-il [1,2,4]triazolo [4,3-b] piridazin-3-il) metil] quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 25 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o cualquier subgrupo y ejemplos del mismo, y 6-{difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b] piridazin-3-il] metil}quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 30 En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo, o cualquier subgrupo y ejemplos del mismo, y 6-[difluoro (6-piridina 4-il [1,2,4] triazolo [4,3-b] piridazin-3-il) metil] quinolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos de la presente invención también tienen aplicaciones terapéuticas en la sensibilización de células tumorales para radioterapia y quimioterapia.

- 35 Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden usarse como "radiosensibilizadores" y/o "quimiosensibilizadores" o pueden administrarse en combinación con otro "radiosensibilizadores" y/o "quimiosensibilizadores".

- 40 El término "radiosensibilizador", como se usa en el presente documento, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente eficaces para aumentar la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o para promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación ionizante.

El término "quimiosensibilizador", como se usa en este documento, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente eficaces para aumentar la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con agentes quimioterapéuticos.

- 45 Varios mecanismos para el modo de acción de los radiosensibilizadores se han sugerido en la literatura, incluidos: radiosensibilizadores de células hipóxicas (por ejemplo, compuestos de 2- nitroimidazol y compuestos de dióxido de benzotriazina) que imitan el oxígeno o se comportan como agentes biorreductores bajo la hipoxia; los radiosensibilizadores celulares no hipóxicos (por ejemplo, pirimidinas halogenadas) pueden ser análogos de las bases de ADN e incorporarse preferentemente en el ADN de las células cancerosas y, por lo tanto, promover la ruptura de las moléculas de ADN inducida por radiación y/o prevenir los mecanismos normales de reparación del ADN; y varios
- 50

otros mecanismos potenciales de acción han sido hipotetizados para los radiosensibilizadores en el tratamiento de enfermedades.

5 Muchos protocolos de tratamiento del cáncer actualmente emplean radiosensibilizadores junto con la radiación de rayos X. Ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, entre otros, los siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9,

RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicidina, fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxiaurea, cisplatino y análogos terapéuticamente eficaces y derivados del mismo.

10 La terapia fotodinámica (PDT) de los cánceres emplea luz visible como activador de radiación del agente sensibilizador. Ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen los siguientes, pero no se limitan a: derivados de hematoporfirina, fotofrina, derivados de benzoporfirina, etioporfirina de estaño, feoborbida-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc y y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos. Los radiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos, que incluyen, entre otros: compuestos que promueven la incorporación de radiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de terapias, nutrientes y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otras enfermedades.

20 Los quimiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos, que incluyen pero no se limitan a: compuestos que promueven la incorporación de quimiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el cáncer u otra enfermedad. Los antagonistas del calcio, por ejemplo, verapamilo, se encuentran útiles en combinación con agentes antineoplásicos para establecer la sensibilidad a la quimioterapia en células tumorales resistentes a los agentes quimioterapéuticos aceptados y para potenciar la eficacia de dichos compuestos en tumores malignos sensibles a los fármacos.

25 En vista de sus propiedades farmacológicas útiles, los componentes de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir, el uno o más de los otros agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la presente invención, pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para fines de administración. Los componentes pueden formularse por separado en composiciones farmacéuticas individuales o en una composición farmacéutica unitaria que contiene todos los componentes.

30 Por lo tanto, la presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende uno o más agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la presente invención junto con un vehículo farmacéutico.

La presente invención se refiere además al uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de células tumorales.

35 La presente invención se refiere además a un producto que contiene como primer ingrediente activo un compuesto de acuerdo con la invención y como ingrediente activo adicional uno o más agentes anticancerosos, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

40 El uno o más otros agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la presente invención pueden administrarse simultáneamente (por ejemplo, en composiciones separadas o unitarias) o secuencialmente en cualquier orden. En este último caso, los dos o más compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y manera suficientes para garantizar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico. Se apreciará que el método preferido y el orden de administración y las cantidades y regímenes de dosificación respectivos para cada componente de la combinación dependerán de la administración del otro agente medicinal particular y el compuesto de la presente invención, su ruta de administración, el tumor particular que está siendo tratado y el huésped particular que está siendo tratado. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente el método y el orden de administración óptimos y las cantidades y el régimen de la dosis, utilizando métodos convencionales y teniendo en cuenta la información que se detalla en el presente documento.

50 El experto en la técnica puede determinar la relación en peso del compuesto de acuerdo con la presente invención y uno o más de los otros agentes anticancerosos cuando se administran como una combinación. Dicha relación y la dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de acuerdo con la invención y de los otros agentes contra el cáncer utilizados, la condición particular que se trata, la gravedad de la condición que se trata, la edad, el peso, el género, La dieta, el tiempo de administración y el estado físico general del paciente en particular, el modo de administración así como otros medicamentos que el individuo puede estar tomando, como es bien conocido por los expertos en la materia. Además, es evidente que la cantidad diaria efectiva puede disminuirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención. Una relación de peso particular para el presente compuesto de fórmula (I) y otro agente anticancerígeno puede variar de 1/10 a 10/1, más en particular de 1/5 a 5/1, aún más en particular de 1/3 a 3/1.

- El compuesto de coordinación de platino se administra ventajosamente en una dosificación de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, por ejemplo 50 a 400 mg/m², particularmente para cisplatino en una dosificación de aproximadamente 75 mg/m² y para carboplatino en aproximadamente 300mg/m² por curso de tratamiento.
- 5 El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosificación de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo, de 75 a 250 mg/m², particularmente para paclitaxel en una dosificación de aproximadamente 175 a 250 mg/m² y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150 mg/m² por curso de tratamiento.
- 10 El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosificación de 0,1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo de 1 a 300 mg/m², particularmente para irinotecan en una dosificación de aproximadamente 100 a 350 mg/m² y para topotecan en aproximadamente 1 a 2 mg/m² por ciclo de tratamiento.
- 15 El derivado antitumoral de podofilotoxina se administra ventajosamente en una dosificación de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo, de 50 a 250 mg/m², particularmente para etopósido en una dosificación de aproximadamente 35 a 100 mg./m² y para tenipósido en aproximadamente 50 a 250 mg/m² por ciclo de tratamiento.
- El alcaloide vinca antitumoral se administra ventajosamente en una dosificación de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosificación de aproximadamente 3 a 12 mg/m², para vincristina en una dosificación de aproximadamente 1 a 2 mg/m², y para vinorelbina en dosificación de aproximadamente 10 a 30 mg/m² por curso de tratamiento.
- 20 El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosificación de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, por ejemplo de 700 a 1500 mg/m², particularmente para 5-FU en una dosificación de 200 a 500 mg/m², para gemcitabina en una dosificación de aproximadamente 800 a 1200 mg/m² y para capecitabina en aproximadamente 1000 a 2500 mg/m² por ciclo de tratamiento.
- 25 Los agentes alquilantes tales como mostaza de nitrógeno o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosificación de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, por ejemplo 120 a 200 mg/m², particularmente para ciclofosfamida en una dosificación de aproximadamente 100 a 500 mg/m², para clorambucil en una dosificación de aproximadamente 0,1 a 0,2 mg/kg, para carmustina en una dosificación de aproximadamente 150 a 200 mg/m², y para lomustina en una dosificación de aproximadamente 100 a 150 mg/m² por curso de tratamiento.
- 30 El derivado antitumoral de antraciclina se administra ventajosamente en una dosificación de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, por ejemplo de 15 a 60 mg/m², particularmente para doxorubicina en una dosificación de aproximadamente 40 a 75 mg/m², para daunorubicina en una dosificación de aproximadamente 25 a 45 mg/m², y para idarubicina en una dosificación de aproximadamente 10 a 15 mg/m² por ciclo de tratamiento.
- 35 El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosificación de aproximadamente 1 a 100 mg al día, dependiendo del agente particular y la condición que se esté tratando. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de 5 a 50 mg, preferiblemente de 10 a 20 mg dos veces al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 60 mg una vez al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. El raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosificación de aproximadamente 25 mg una vez al día.
- 40
- 45 Los anticuerpos se administran ventajosamente en una dosificación de aproximadamente 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, o como se conoce en la técnica, si es diferente. Trastuzumab se administra ventajosamente en una dosificación de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, en particular de 2 a 4 mg/m² por ciclo de tratamiento.
- Estas dosificaciones se pueden administrar, por ejemplo, una vez, dos veces o más por curso de tratamiento, que se puede repetir, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.
- 50 Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición farmacéuticamente aceptables, en particular las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, y las formas estereoisoméricas de los mismos pueden tener valiosas propiedades diagnósticas ya que pueden usarse para detectar o identificar la formación de un complejo entre un compuesto marcado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores.
- 55 Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que están marcados con agentes de marcado tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de los radioisótopos incluyen ¹²⁵I, ¹³¹I, ³H y ¹⁴C. Las enzimas generalmente se hacen detectables mediante la conjugación de un sustrato

apropiado que, a su vez, cataliza una reacción detectable. Ejemplos de los mismos incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato deshidrogenasa, preferiblemente peroxidasa de rábano picante. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aequorina y luciferasa. Las muestras biológicas se pueden definir como tejido corporal o fluidos corporales. Ejemplos de fluidos corporales son fluido cerebroespinal, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y similares.

5

Rutas sintéticas generales

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención, pero son solo ejemplos y no pretenden limitar el alcance de las reivindicaciones de ninguna manera.

Parte experimental

- 10 De aquí en adelante, el término 'DCM' significa diclorometano, 'Me' significa metilo, 'Et' significa etilo, 'MeOH' significa metanol, 'DMF' significa dimetilformamida, 'Et₂O' significa dietil éter, 'EtOAc' significa acetato de etilo, 'ACN' significa acetonitrilo, 'H₂O' significa agua, 'THF' significa tetrahidrofurano, 'MgSO₄' significa sulfato de magnesio, 'NH₄OH' significa hidróxido de amonio, 'K₂CO₃' significa carbonato de dipotasio, 'MgCl₂' significa cloruro de magnesio, 'iPrNH₂' significa isopropilamina, 'NH₄HCO₃' significa bicarbonato de amonio, 'DMSO' significa dimetilsulfóxido, 'EDTA' significa ácido etilendiaminotetraacético, 'NADP' significa nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, 'SFC' significa cromatografía de fluidos supercrítica, 'MP' significa punto de fusión.
- 15

A. Preparación de los intermedios.

- 20 Intermedio 1 o N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletilo)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina se describe como el compuesto 4 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos en el presente documento para el compuesto 4.

Intermedio 2 o N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletilo)-N-[3-(1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina se describe como compuesto de base libre 137 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos en el presente documento para el compuesto 137.

- 25 Intermedio 3 o N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metilo)-N-[3-(1-etilo-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina se describe como el compuesto 449 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos en el presente documento para el compuesto 449.

- 30 Intermedio 4 o N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletilo)-N-[3-(1-etilo-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina se describe como base libre o sal de HCl como el compuesto 135 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos en el presente documento para el compuesto 135.

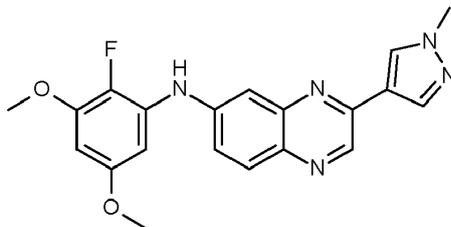
Intermedio 5 o N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletilo)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]propano-1,3-diamina se describe como el compuesto 382 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos en el presente documento para el compuesto 382.

- 35 Intermedio 6 o 7-bromo-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-quinoxalina se describe como el intermedio 2 en WO2011/135376 y puede prepararse de acuerdo con los protocolos descritos para el intermedio 2.

El documento WO2011/135376 se incorpora aquí como referencia.

Ejemplo A1

a) Preparación del intermedio 7

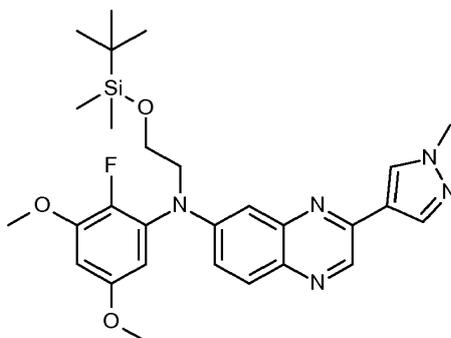


40

Una mezcla de intermedio 6 (5 g; 17 mmol), 2-fluoro-3,5-dimetoxianilina (3,6 g; 21 mmol), tert-butoxido de sodio (5 g; 52 mmol) y rac-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo. (0,54 g; 0,87 mmol) en dioxano (100 ml) se desgasificó a temperatura ambiente bajo un flujo de nitrógeno. Después de 10 minutos, se añadió acetato de paladio (II) (388 mg; 1,7 mmol) en porciones a temperatura ambiente bajo un flujo de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 95°C durante 5 horas.

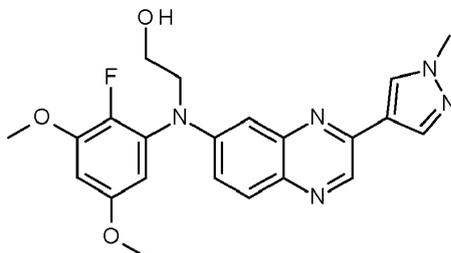
La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en agua helada y DCM. La mezcla se filtró a través de una capa de celite®. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se cristalizó en dietiléter y el precipitado se separó por filtración, se secó bajo vacío para dar 4 g (61%) de intermedio 7.

5 b) Preparación del intermedio 8



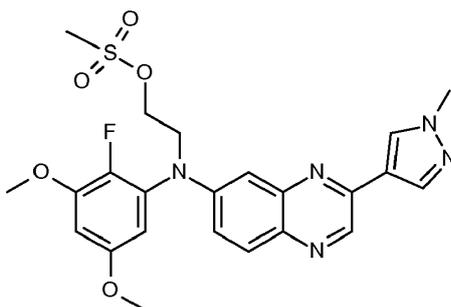
10 Se añadió hidruro de sodio (0,21 g; 5,35 mmol) a una solución del intermedio 7 (0,7 g; 1,85 mmol) en DMF (25 ml) a 5°C bajo un flujo de nitrógeno. La mezcla se agitó a 5°C durante 1 hora. Se añadió gota a gota (2-bromoetoxi)-tert-butildimetilsilano (0,51 ml; 2,40 mmol) a 5°C bajo un flujo de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla se vertió en agua enfriada y el producto se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con H₂O, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó para dar 1,2 g (cuant.) del intermedio 8. El producto crudo se usó sin purificación en la siguiente etapa.

15 c) Preparación del intermedio 9



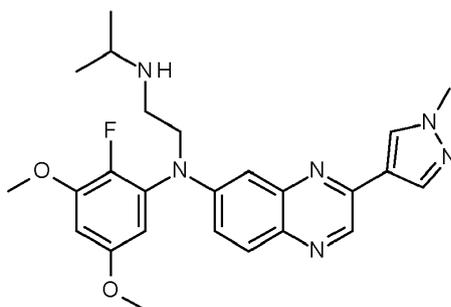
20 Se añadió fluoruro de tetrabutil amonio (1M en THF) (2 ml; 2 mmol) a una solución del intermedio 8 (1 g; 1,85 mmol) en THF (20 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se sometió a partición entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo (1,2 g) se purificó por cromatografía sobre sílica gel (SiOH irregular, 15-40 µm; 80 g; eluyente: DCM al 98%, MeOH al 2%, NH₄OH al 0,1%). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó. El residuo (500 mg) se cristalizó en dietiléter. El precipitado se filtró y se secó para dar 410 mg (52%) de intermedio 9. MP: 172 °C (K).

25 d) Preparación del intermedio 10



- 5 Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (0,3 ml; 3,88 mmol) a 5°C a una solución del intermedio 9 (547 mg; 1,29 mmol) y trietilamina (0,9 ml; 6,46 mmol) en DCM (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 1 hora, se diluyó con DCM y se vertió en una solución acuosa al 10% de K₂CO₃. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó para dar 850 mg (> 100%) del intermedio 10. El producto crudo se usó sin purificación en la siguiente etapa.

e) Preparación del intermedio 11

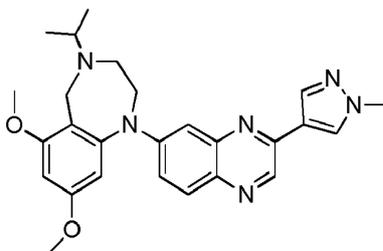


- 10 Una mezcla del intermedio 10 (0,648 g; 1,29 mmol) e isopropilamina (2,4 ml; 28 mmol) en CH₃CN (15 ml) se calentó a 100°C durante 24 horas en un tubo sellado. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con DCM y se vertió en agua. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílica gel (SiOH irregular; 24 g; gradiente: desde MeOH al 3%, DCM al 97% hasta MeOH al 10%, DCM al 90%). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron para dar 452 mg (75%) del intermedio 11.

15 B. Preparación de los compuestos de fórmula (I)

Ejemplo B1:

Preparación del compuesto 1

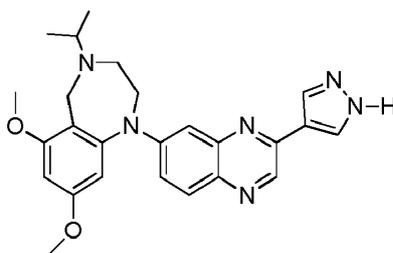


- 20 Una solución de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il) quinoxalin-6-il] etano-1,2-diamina (intermedio 1) (0,42 g; 0,9 mmol), formaldehído (solución al 37% en agua; 0,21 ml; 2,8 mmol) en dioxano (8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se añadieron agua y EtOAc. La capa orgánica se decantó, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó hasta sequedad. El residuo (0,52 g) se purificó por cromatografía sobre sílica gel (Fase estacionaria: sílica esférica al descubierto 5 µm 150x30.0mm, Fase móvil: Gradiente de 0.2% NH₄OH, 98% DCM, 2% MeOH a 1.2% NH₄OH, 88% DCM, 12% de MeOH). Las fracciones que contenían el producto deseado se recogieron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo (0,37 g) se cristalizó a partir de una mezcla de MeOH y Et₂O. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 0,27 g (64%) de compuesto 1 (MP: 190 °C (DSC)).

Ejemplo B2:

Preparación del compuesto 2

30



Una solución de N-(3,5-dimetoxifenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (intermedio 2) (0,24 g; 0,52 mmol), formaldehído (solución al 37% en agua; 0,12 ml; 1,55 mmol) en dioxano (8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días sin transformación. Se añadió K_2CO_3 (0,22 g; 1,55 mmol) y la solución se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 3 días. La capa orgánica se extrajo, se secó sobre $MgSO_4$ y se evaporó hasta sequedad. El residuo (0.176 g) se purificó por cromatografía sobre sílica gel (Fase estacionaria: sílica esférica al descubierto 5 μm 150x30.0mm, Fase móvil: Gradiente de 0.2% NH_4OH , 98% DCM, 2% MeOH a 1.3% NH_4OH , 87% DCM, 13% de MeOH). Las fracciones que contenían el producto deseado se recogieron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo (79 mg) se liofilizó con acetonitrilo/agua 20/80 para dar 66 mg (34%) de compuesto 2 como un polvo gomoso amarillo.

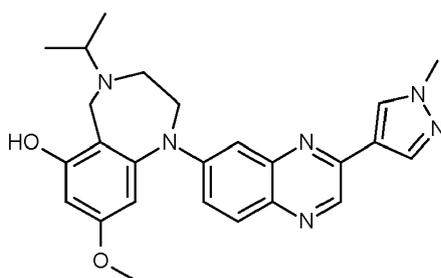
Ejemplo B3:

Preparación del compuesto 3 y 4

Se incubaron 50 μM del intermedio 1 a 37 $^{\circ}C$ con la fracción de 12,000 g del hígado de rata durante 60 minutos a 1 mg/ml de proteína. Se preparó una solución madre de 10 mM de intermedio 1 en metanol y se diluyó 200 veces (0,25 ml en 50 ml) en el medio de incubación (concentración final de metanol al 0,5% en la incubación). El regulador de incubación contenía EDTA 1 mM, $MgCl_2$ 5 mM y regulador de fosfato de potasio 100 mM (pH 7,4). La reacción se inició mediante la adición de NADP (concentración final 1 mM). La incubación se detuvo mediante congelación instantánea en hielo seco.

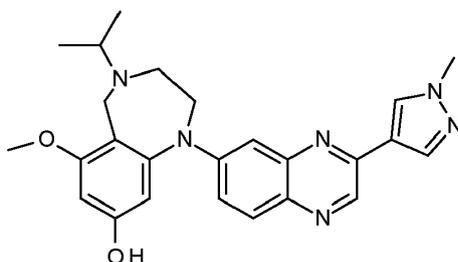
Los metabolitos resultantes se extrajeron inicialmente utilizando acetato de etilo. La fracción del metabolito se evaporó hasta sequedad, se reconstituyó en DMSO: agua (1: 1, v/v) y se separó usando UPLC en fase reversa. La separación se logró usando dos columnas Interchim Strategy C18-2, 2,2 μm , (150 mm x 3,0 mm ID) usando solvente A con un gradiente lineal de 5-70% de B durante 20 minutos a 0,8 ml/min. Los solventes consistieron en solvente A, acetato de amonio 25 mM, pH 4,0 y solvente B, acetonitrilo/metanol (60/40, v/v). Las fracciones pico correspondientes a los productos deseados se recogieron y se evaporaron hasta sequedad, produciendo los compuestos 3 y 4.

Compuesto 3



El compuesto 3 también se puede preparar de acuerdo con el protocolo descrito en el Ejemplo 1 a partir del compuesto 645 del documento WO2011/135376.

Compuesto 4



Alternativamente, los compuestos 3 y 4 también se prepararon como sigue:

- 5 Se añadió gota a gota tribromuro de boro (1 M en DCM; 6 ml; 6 mmol) a una solución del compuesto 1 (485 mg; 1,06 mmol) en DCM (25 ml) a 5 °C bajo flujo de nitrógeno. La solución se dejó elevar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM, se vertió en salmuera y se basificó con K₂CO₃ sólido. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílica gel (SiOH irregular, 40 g; fase móvil: gradiente de 0,5% de NH₄OH, 94,5% de DCM, 5% MeOH a 0,5% de NH₄OH, 89,5% de DCM, 10% de MeOH). Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se evaporaron hasta sequedad para producir 110 mg (23%) de compuesto 1 y 287 mg de una mezcla de compuestos 3 y 4. Esta última fracción se purificó mediante SFC aquiral (Chiralpak AD-H 5µm 250x30 mm; fase móvil: 0,3% de isopropilamina, 70% de CO₂, 30% de MeOH). Las fracciones puras se recogieron, se concentraron y se cristalizaron en Et₂O/ACN. Los precipitados se filtraron para proporcionar 53 mg (11%) de compuesto 3 (MP: 255 °C, K) y 148 mg (31%) de compuesto 4 (MP: 256 °C, K).

Ejemplo B4:

- 15 Se preparó una solución madre de 2 mM de intermedio 1 en metanol y esta se diluyó 200 veces en el medio de incubación (concentración final de metanol al 0,5% en la incubada). La incubación se realizó a 37 °C con la fracción de 12,000 g de hígado de rata durante 60 minutos a 1 mg/ml de proteína. El regulador de incubación contenía EDTA 1 mM, MgCl₂ 5 mM y regulador de fosfato de potasio 100 mM (pH 7,4). La reacción se inició mediante la adición de NADP (concentración final 1 mM). La incubación se detuvo mediante congelación instantánea en hielo seco.
- 20 La incubación resultante (1 ml) se mezcló con 5 volúmenes de acetonitrilo, se mezcló con vórtex y se sometió a sonicación durante 10 minutos. La proteína se eliminó mediante centrifugación a 3200 rpm a 8 °C durante 30 minutos. El sobrenadante se eliminó y se evaporó hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno a 30°C. El extracto se reconstituyó en acetonitrilo/agua (1: 1, v/v). La muestra fue analizada como sigue:

UPLC con detección de MS

25

Bomba de cromatografía líquida de ultra rendimiento

Solvente Acquity Binary Manager/Waters 2777 CTC-Pal-injector

Detector de UV:

Waters Acquity PDA

30 Detector de MS:

Waters G2(S) QToF MS/Thermo LTQ-Orbitrap

Sistema de datos:

Waters Masslynx 4.1

Condiciones de operación:

35

- Columna:

Interchim, Strategy C18-2, 2.2 µm 2x(150mm x 3.0 mm ID)

- Temperatura de columna:

T = 60°C

40 - Temperatura de la muestra:

ES 2 702 450 T3

T = 10°C

- Fase móvil:

Solvente A: acetato de amonio 0.025 M pH 4.0

Solvente B: 60/40 (v/v) acetonitrilo/metanol

5 - Modo de elución:

Gradiente lineal:

Tiempo (min)	0	5	22	22.5	25	25.5
%A	95	80	50	0	0	95
%B	5	20	50	100	100	5

- Tiempo de ejecución: 30 min

- Flujo: 0.8 ml/min

10 Infusión de jeringa:

Fase móvil: Acetonitrilo : agua (1:1, v/v)

Flujo: 5µl/min

Condiciones de detección

15 Condiciones de MS – espectrómetro de masas waters synapt g2 y g2s

El análisis de MS se llevó a cabo utilizando espectrómetros de masas SYNAPT G2 y G2S de Waters, equipados con una sonda de ionización de electroaspersión doble y se hizo funcionar en modo de ion positivo de alta resolución. El voltaje capilar se ajustó a 3 kV y el cono a 40V. La temperatura de la fuente fue de 120 °C, la temperatura de desolvatación de 400 °C. El espectrómetro de masas se calibró con una solución de formiato de sodio suministrada a través de Sample Spray. La sonda LockSpray™ ESI proporcionó una fuente independiente del calibrador de masa de bloqueo Leucine Enkephaline. El ión Leucina en m/z556.2771 se usó como masa de bloqueo en la MS completa, así como en el modo MSMS. Los datos QTOF (MS, MSMS) se adquirieron en el modo centroide con un tiempo de exploración variable (0.5 - 1.0 s). Todos los datos fueron procesados utilizando el software Masslynx.

20

Condiciones de MS - espectrómetro de masas termo-ltq-orbitrap

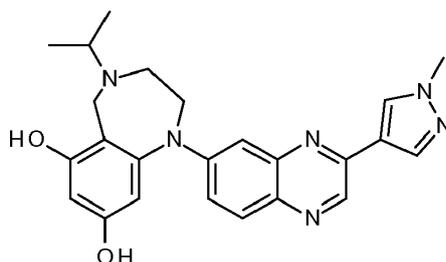
25 El espectrómetro de masas LTQ-Orbitrap estaba equipado con una fuente de ionización por electropulverización operada en el modo de ión positivo. Las mediciones de masa precisas se obtuvieron utilizando una calibración externa o una calibración de masa de bloqueo (bloqueo de iones de masa en m/z 391.2843). Los parámetros de la fuente se ajustaron para la sensibilidad máxima utilizando una solución estándar de fármaco sin cambios de 10 ng/µL. La misma solución se utilizó para definir la energía de colisión óptima empleada durante la fragmentación de MSⁿ. Los metabolitos se seleccionaron para la fragmentación de MSⁿ a partir de la traza LC-MS utilizando un escaneo dependiente de los datos. Los datos se adquirieron en modo centroide y se procesaron con el software XCalibur.

30

En el experimento anterior, se detectaron el compuesto 4 ([MH]⁺ m/z 445), el compuesto 3 ([MH]⁺ m/z 445) y el compuesto 5 ([MH]⁺ m/z 431).

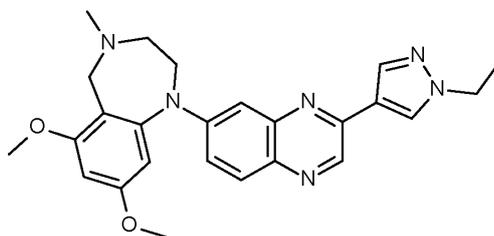
Compuesto 5 :

35



Ejemplo B5

Preparación del compuesto 6



5

Una solución de intermedio 3 (292 mg; 0,675 mmol), formaldehído (solución al 37% en agua; 151 μ L; 2,02 mmol) en 1,4-dioxano (5,48 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A medida que se observó una baja transformación, se añadió formaldehído adicional (solución al 37% en agua; 252 μ l; 3,37 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 horas.

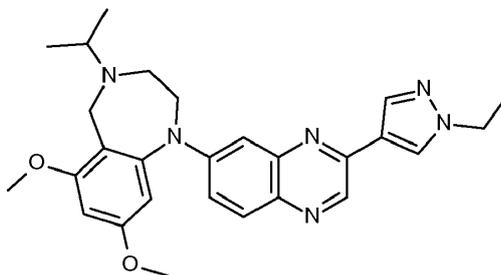
10 Se añadieron H₂O y EtOAc. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad.

El residuo (0,325 g) se purificó por cromatografía en sílica gel (SiOH irregular, 40 g, fase móvil: gradiente de 95% de DCM, 5% de MeOH, 0,5% de NH₄OH a 90% de DCM, 10% de MeOH, 1% de NH₄OH). Las fracciones que contenían el producto se mezclaron y se concentraron para proporcionar una fracción intermedia (106 mg) que se cristalizó en una mezcla de Et₂O/ACN para proporcionar después de la filtración y el secado de 86 mg (28%) del compuesto 6. MP:

15 170 °C (K)

Ejemplo B6

Preparación del compuesto 7



20 como una sal de HCl (1.65HCl 2.2H₂O)

Una solución de intermedio 4 (293 mg; 0,638 mmol), formaldehído (solución al 37% en agua; 143 μ L; 1,91 mmol) en 1,4-dioxano (5,16 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Como no se observó transformación, se añadió formaldehído adicional (solución al 37% en agua; 238 μ l; 3,18 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 horas. De nuevo, se añadió formaldehído adicional (solución al 37% en agua; 477 μ l; 6,36 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 horas. Se añadieron H₂O y EtOAc. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad.

25

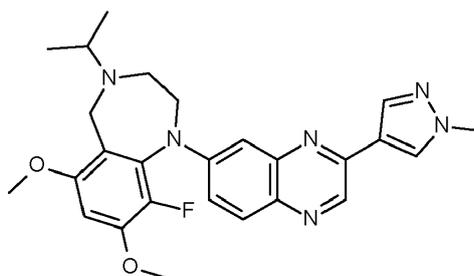
El residuo (0,48 g) se purificó por cromatografía en sílica gel (sílica esférica al descubierto 5 μ m 150x30,0mm, fase móvil: gradiente de 0,2% NH₄OH, 98% DCM, 2% MeOH a 1% NH₄OH, 90% DCM, 10% MeOH). Las fracciones que contenían el producto se mezclaron y se concentraron para proporcionar 148 mg de una fracción intermedia que se purificó por SFC quiral (Fase estacionaria: CIANO 6 μ m 150x21,2mm, fase móvil: 90% CO₂, 10% MeOH (0,3%

30

iPrNH₂). Las fracciones que contenían el producto se mezclaron y se concentraron para proporcionar 100 mg de una fracción intermedia que se disolvió en MeOH. Se añadieron 0,1 ml de HCl en iPrOH (2-5N) a 0 °C. La mezcla se concentró luego y el residuo resultante se recogió con Et₂O. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar 103 mg (29%) del compuesto 7 en forma de un sólido de color rojo. MP: 152 °C (K)

5 Ejemplo B7

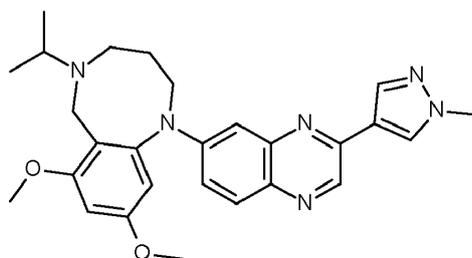
Preparación del compuesto 8



10 Una solución de intermedio 11 (382 mg; 0,82 mmol) y formaldehído (solución al 37% en agua; 308 µl; 4,11 mmol) en dioxano (10 ml) se calentó a 60°C durante 3 días. Se añadieron H₂O y EtOAc. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílica gel (sílica esférica al descubierto 5 µm 150x30.0 mm; gradiente: de 71% de heptano, 1% de MeOH (+ 10% de NH₄OH), 28% de EtOAc a 0% de heptano, 20% de MeOH (+ 10% de NH₄OH), 80% de EtOAc). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo (65 mg) se purificó por cromatografía en fase reversa (X-Bridge-C18 5 µm 30 * 150 mm; gradiente: de 80% NH₄HCO₃ 0.5%, 20% CH₃CN a 0% NH₄HCO₃ 0.5%, 100% CH₃CN). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron para dar 15 mg (4%) del compuesto 8. MP: 266 °C (K).

Ejemplo B8

Preparación del compuesto 9



20 Una solución de intermedio 5 (0,21 g; 0,46 mmol) y formaldehído (solución al 37% en agua; 0,1 ml; 1,4 mmol) en 1,4-dioxano (8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Después de una semana, se añadió formaldehído adicional (solución al 37% en agua; 0,5 ml; 20,55 mmol), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días más. Se añadieron H₂O y EtOAc. La capa orgánica se extrajo, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó hasta sequedad.

25 El residuo resultante (170 mg) se purificó por fase reversa (Fase estacionaria: X-Bridge-C18 5µm 30 * 150mm, Fase móvil: Gradiente de 85% NH₄HCO₃ 0.5%, 15% ACN a 0% NH₄HCO₃ 0.5%, 100% ACN). Las fracciones que contenían el producto se mezclaron y se concentraron para proporcionar una fracción intermedia (10 mg) que se liofilizó con acetonitrilo/agua 20/80 para dar 9 mg (4%) del compuesto 9 como un polvo amarillo. MP: goma a 80 °C (K).

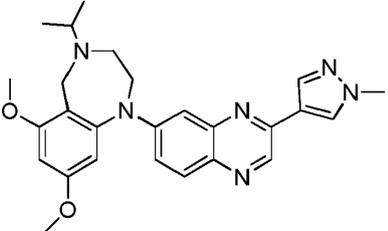
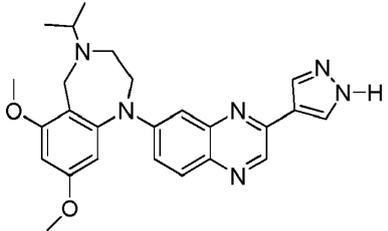
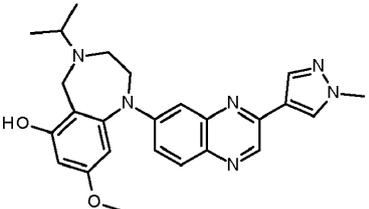
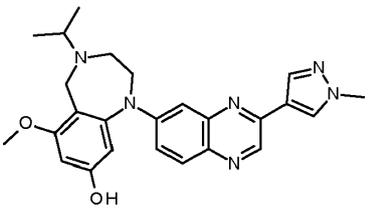
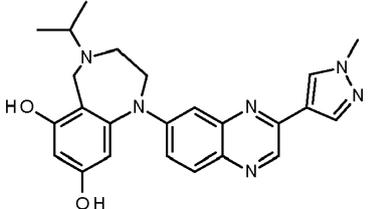
Parte analítica

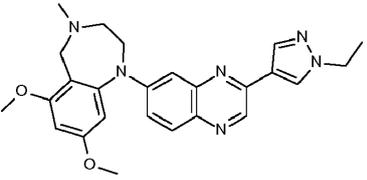
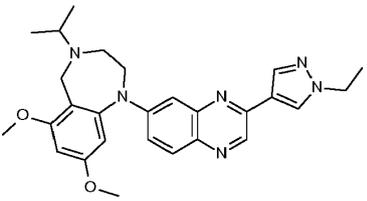
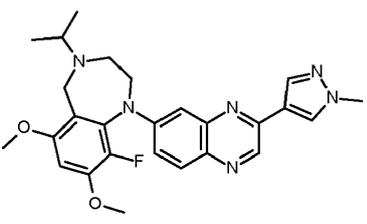
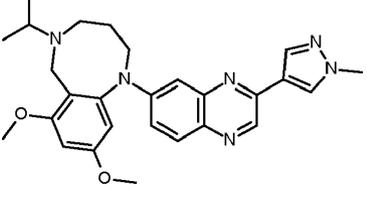
30 LCMS (Cromatografía líquida/Espectrometría de masas (véase Tabla A1)

La medición de LC se realizó utilizando un sistema UPLC (Cromatografía líquida de ultra rendimiento) Acquity (Waters) que comprende una bomba binaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de arreglo de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los métodos respectivos a continuación, la columna se mantiene a una temperatura de 40 °C. El flujo de la columna se llevó hasta un detector de MS. El detector MS se configuró con una fuente de ionización por electroaspersión. El voltaje de la aguja capilar fue de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130 °C en el Quattro (espectrómetro de masas de triple cuadrupolo de Waters). Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se realizó con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

- 5 La UPLC en fase reversa se llevó a cabo en una columna C18 Waters Acquity BEH (híbrido de etilsiloxano/sílica puenteado) (1,7 μm , 2,1 x 100 mm) con una tasa de flujo de 0,343 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: 95% de acetato de amonio 7 mM/5% de acetonitrilo; fase móvil B: 100% de acetonitrilo) para ejecutar un estado de gradiente de 84.2% A y 15.8% de B (sostenido durante 0.49 minutos) a 10.5 % A y 89.5% B en 2.18 minutos, mantener durante 1.94 minutos y volver a las condiciones iniciales en 0.73 minutos, mantener durante 0.73 minutos. Se utilizó un volumen de inyección de 2 μl . El voltaje del cono fue de 20 V para el modo de ionización positiva y negativa. Los espectros de masas se adquirieron con barrido de 100 a 1000 en 0,2 segundos utilizando un retardo entre barridos de 0,1 segundos.
- DSC
- 10 Para un número de compuestos, los puntos de fusión (MP) se determinaron con un DSC1 (Mettler-Toledo). Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$. La temperatura máxima fue de 350 $^{\circ}\text{C}$. Los valores son valores pico.
- 15 Para un número de compuestos, los puntos de fusión se obtuvieron con un banco caliente Kofler, que consiste en una placa calentada con un gradiente de temperatura lineal, un indicador deslizante y una escala de temperatura en grados Celsius.
- RMN
- 20 Para los compuestos 1, 2, 6 a 9, los experimentos de RMN se llevaron a cabo utilizando un Bruker Avance III 500 utilizando un bloqueo interno de deuterio y se equiparon con una cabeza de sonda de resonancia triple inversa (^1H , ^{13}C , ^{15}N TXI). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm).
- 25 Para los compuestos 3 y 4, cada fracción se disolvió en 250 μl de DMSO- d_6 sin agua y la solución resultante se transfirió a un tubo de RMN Shigemi de 5 mm con una susceptibilidad magnética adaptada para el solvente respectivo.
- Los experimentos se registraron en un espectrómetro Bruker Avance de 600 MHz equipado con una criosonda de detección inversa de 5 mm (CPTCI). Los espectros 1D ^1H y 2D NOESY, HSQC y HMBC se registraron ejecutando los programas de pulsos Bruker estándar. El espectro NOESY se utilizó para la determinación de conectividades a través del espacio; El espectro HMBC para conectividades a través de enlaces. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm. Los datos de desplazamiento químico de ^1H RMN se obtuvieron del espectro 1D ^1H utilizando el centro del multiplete de DMSO- d_5 a 2,50 ppm o el centro del multiplete de acetonitrilo- d_2 a 1,94 ppm como referencia interna. Las constantes de acoplamiento se miden en Hz. Los desplazamientos químicos de ^{13}C RMN se obtuvieron utilizando el centro del multiplete de DMSO- d_6 a 39.51 ppm como referencia interna.
- 30 Tabla A1: No. de Co. significa número de compuesto; Tiempo de retención (R_t) en minutos; MP significa punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$).

Como se entiende por experto en la técnica, los compuestos sintetizados usando los protocolos como los indicados pueden existir como solvato, por ejemplo hidratar y/ o contener solventes residuales o impurezas menores

No. de Co.	Compuesto	MP	(Kofler(K) o DSC)	R _t	[M+H] ⁺
1		190°C	DSC	2.46 (98.15 de pureza)	459
2		80°C (goma y)	K	2.29 (94.35 de pureza)	445
3		255°C	K	2.07 (100% de pureza)	445
4		256°C	K	2.06 (100% de pureza)	445
5					

6		170°C	K	2.47 (99% de pureza)	445
7	 <p>como sal de HCl</p>	152°C (goma y)	K	2.64 (95% de pureza)	473
8		266°C	K	2.58 (95% de pureza)	477
9		80°C (goma y)	K	2.23 (100% de pureza)	473

Compuesto 1

¹H RMN se realizó a 350°K

5 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.99 (d, *J*=6.5 Hz, 6 H) 2.84 (spt, *J*=6.5 Hz, 1 H) 2.88 - 2.93 (m, 2 H) 3.56 (br. s., 2 H) 3.76 (s, 3 H) 3.82 - 3.91 (m, 5 H) 3.93 (s, 3 H) 6.42 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 6.57 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 6.97 (d, *J*=2.7 Hz, 1 H) 7.26 (dd, *J*=9.1, 2.7 Hz, 1 H) 7.75 (d, *J*=9.1 Hz, 1 H) 8.14 (s, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 8.87 (s, 1 H)

Compuesto 2

¹H RMN se realizó a 350°K

10 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.99 (d, *J*=6.6 Hz, 6 H) 2.84 (spt, *J*=6.6 Hz, 1 H) 2.88 - 2.95 (m, 2 H) 3.56 (br. s., 2 H) 3.76 (s, 3 H) 3.80 - 3.95 (m, 5 H) 6.43 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 6.57 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 6.99 (d, *J*=2.7 Hz, 1 H) 7.26 (dd, *J*=9.5, 2.7 Hz, 1 H) 7.75 (d, *J*=9.5 Hz, 1 H) 8.35 (br. s., 2 H) 8.92 (s, 1 H) 13.08 (br. s., 1 H)

Compuesto 3

¹H RMN se realizó a 300°K

ES 2 702 450 T3

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.98 (d, *J*=6.42 Hz, 6 H) 2.82 (spt, *J*=6.50 Hz, 1 H) 2.88 (t, *J*=4.53 Hz, 2 H) 3.69 (s, 3 H) 3.91 (s, 3 H) 6.29 (d, *J*=2.27 Hz, 1 H) 6.42 (d, *J*=2.27 Hz, 1 H) 6.89 (br. s., 1 H) 7.25 (br. s., 1 H) 7.75 (d, *J*=9.07 Hz, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.53 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

Compuesto 4

5 ¹H RMN se realizó a 300°K

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.96 (d, *J*=6.70 Hz, 6 H) 2.81 (spt, *J*=6.70 Hz, 1 H) 2.86 (t, *J*=4.34 Hz, 2 H) 3.79 (s, 3 H) 3.91 (s, 3 H) 6.26 (d, *J*=1.89 Hz, 1 H) 6.41 (d, *J*=2.27 Hz, 1 H) 6.91 (br. s., 1 H) 7.27 (br. s., 1 H) 7.75 (d, *J*=9.44 Hz, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.53 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

Compuesto 6

10 ¹H RMN se realizó a 300°K

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.43 (t, *J*=7.3 Hz, 3 H) 2.22 (br s, 3 H) 2.82 (br s, 2 H) 3.50 - 4.10 (m, 10 H) 4.20 (q, *J*=7.3 Hz, 2 H) 6.46 (d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 6.59 (d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 6.92 (br s, 1 H) 7.25 (br d, *J*=7.3 Hz, 1 H) 7.77 (d, *J*=9.1 Hz, 1 H) 8.20 (s, 1 H) 8.58 (s, 1 H) 8.92 (s, 1 H)

Compuesto 7

15 ¹H RMN se realizó a 300°K

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.32 (dd, *J*=9.8, 6.6 Hz, 6 H) 1.44 (t, *J*=7.4 Hz, 3 H) 3.35 - 3.60 (m, 3 H) 3.93 (s, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 4.22 (q, *J*=7.5 Hz, 2 H) 4.43 (br d, *J*=12.9 Hz, 1 H) 4.58 (br s, 1 H) 6.56 (d, *J*=2.5 Hz, 1 H) 6.70 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 7.17 (br d, *J*=1.9 Hz, 1 H) 7.30 (dd, *J*=9.3, 2.4 Hz, 1 H) 7.84 (d, *J*=9.1 Hz, 1 H) 8.23 (s, 1 H) 8.62 (s, 1 H) 9.02 (s, 1 H) 10.26 (br s, 1H)

20 Compuesto 8

¹H RMN se realizó a 350°K

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.99 (d, *J*=6.6 Hz, 6 H) 2.85 (spt, *J*=6.5 Hz, 1 H) 2.92 (t, *J*=4.6 Hz, 2 H) 3.58 (br s, 2 H) 3.80 - 4.05 (m, 11 H) 6.84 (d, *J*=6.9 Hz, 1 H) 6.92 (br s, 1 H) 7.20 (br d, *J*=9.5 Hz, 1 H) 7.79 (d, *J*=9.1 Hz, 1 H) 8.15 (s, 1 H) 8.46 (s, 1 H) 8.89 (s, 1 H)

25 Compuesto 9

¹H RMN se realizó a 300°K

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.97 (br d, *J*=5.4 Hz, 6 H) 1.64 (br s, 2 H) 2.72 (br s, 2 H) 2.84 (spt, *J*=6.4 Hz, 1 H) 3.50 - 3.80 (m, 7 H) 3.84 (s, 3 H) 3.92 (s, 3 H) 6.21 (d, *J*=2.2 Hz, 1 H) 6.61 (d, *J*=2.5 Hz, 1 H) 6.92 (br s, 2 H) 7.71 (d, *J*=9.5 Hz, 1 H) 8.19 (s, 1 H) 8.54 (s, 1 H) 8.91 (s, 1 H)

30 Algunas señales del anillo de diazepina se amplían más allá de la detección en espectros medidos a 300 K en DMSO-*d*₆.

Parte farmacológica

Ensayos biológicos A

FGFR1 (ensayo enzimático)

35 En un volumen de reacción final de 30 µL, FGFR1 (h) (25 ng/ml) se incubó con HEPES 50 mM pH 7.5, 6mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,1 mM Na₃VO₄, 0,01% Triton-X-100, 500 nM Bln-Flt3 y 5 µM ATP en presencia del compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente la reacción se detuvo con 2.27 nM EU-anti P-Tyr, 7 mM EDTA, 31.25 nM SA-XL-665 y 0.02% de BSA que se presentó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía por Resonancia en Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se midió después y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 µM a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

40

FGFR2 (ensayo enzimático)

45 En un volumen de reacción final de 30 µL, FGFR2 (h) (150 ng/ml) se incubó con HEPES 50 mM pH 7.5, 6mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,1 mM Na₃VO₄, 0,01% Triton-X-100, 500 nM Bln-Flt3 y 0.4 µM ATP en presencia del compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente la reacción se detuvo con 2.27 nM EU-anti P-Tyr, 7 mM EDTA, 31.25 nM SA-XL-665 y 0.02% de BSA que se presentó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía por Resonancia en Fluorescencia Resuelta en el Tiempo

(TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se midió después y los resultados se expresan en (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

FGFR3 (ensayo enzimático)

- 5 En un volumen de reacción final de 30 μ L, FGFR3 (h) (40 ng/ml) se incubó con HEPES 50 mM pH 7.5, 6mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,1 mM Na₃VO₄, 0,01% Triton-X-100, 500 nM Btn-Fit3 y 25 μ M ATP en presencia del compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente la reacción se detuvo con 2.27 nM EU-anti P-Tyr, 7 mM EDTA, 31.25 nM SA-XL-665 y 0.02% de BSA que se presentó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía por Resonancia en Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET)(ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se midió después y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

FGFR4 (ensayo enzimático)

- 15 En un volumen de reacción final de 30 μ L, FGFR4 (h) (60 ng/ml) se incubó con HEPES 50 mM pH 7.5, 6mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,1 mM Na₃VO₄, 0,01% Triton-X-100, 500 nM Btn-Fit3 y 5 μ M ATP en presencia del compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente la reacción se detuvo con 2.27 nM EU-anti P-Tyr, 7 mM EDTA, 31.25 nM SA-XL-665 y 0.02% de BSA que se presentó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía por Resonancia en Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET)(ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se midió después y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

KDR (VEGFR2) (ensayo enzimático)

- 25 En un volumen de reacción final de 30 μ L, KDR (h) (150 ng/ml) se incubó con HEPES 50 mM pH 7.5, 6mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,1 mM Na₃VO₄, 0,01% Triton-X-100, 500 nM Btn-Fit3 y 3 μ M ATP en presencia del compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 120 minutos a temperatura ambiente la reacción se detuvo con 2.27 nM EU-anti P-Tyr, 7 mM EDTA, 31.25 nM SA-XL-665 y 0.02% de BSA que se presentó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía por Resonancia en Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET)(ej340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se midió después y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

Ba/F3-FGFR1 (menos IL3 o más IL3) (ensayo de proliferación celular)

- 35 En una placa de 384 pocillos, se pulverizaron 100 nl de dilución del compuesto en DMSO antes de agregar 50 μ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y 50 μ g/ml de gentamicina) que contenían 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/F3-FGFR1. Las células se pusieron en una incubadora a 37 °C y 5% de CO₂. Después de 24 horas, se agregaron 10 μ l de solución de Alamar Blue (K₃Fe 0,5 mM (CN)₆, K₄Fe 0,5 mM (CN)₆, Resazurin 0,15 mM y regulador de fosfato 100 mM) a los pocillos, se incubaron durante 4 horas a 37 °C y 5% de CO₂ antes de RFU's (Unidades de Fluorescencia Relativas) (ej. 540 nm., em. 590 nm.) se midieron en un lector de placas de fluorescencia. En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

40 Como una pantalla contraria, se realizó el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murino.

Ba/F3-FGFR3 (menos IL3 o más IL3) (ensayo de proliferación celular)

- 45 En una placa de 384 pocillos, se pulverizaron 100 nl de dilución del compuesto en DMSO antes de agregar 50 μ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y 50 μ g/ml de gentamicina) que contenían 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/F3-FGFR3. Las células se pusieron en una incubadora a 37 °C y 5% de CO₂. Después de 24 horas, se agregaron 10 μ l de solución de Alamar Blue (K₃Fe 0,5 mM (CN)₆, K₄Fe 0,5 mM (CN)₆, Resazurin 0,15 mM y regulador de fosfato 100 mM) a los pocillos, se incubaron durante 4 horas a 37 °C y 5% de CO₂ antes de que se midieran las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ej. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placas de fluorescencia. En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 μ M a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀).

50 Como una pantalla contraria, se realizó el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murino.

Ba/F3-KDR (menos IL3 o más IL3) (ensayo de proliferación celular)

- 55 En una placa de 384 pocillos, se pulverizaron 100 nl de dilución del compuesto en DMSO antes de agregar 50 μ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y 50 μ g/ml de gentamicina) que contenían 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/F3-KDR. Las células se pusieron en una incubadora a 37 °C y 5% de CO₂. Después de 24 horas, se agregaron 10 μ l de solución de Alamar Blue (K₃Fe 0,5 mM (CN)₆, K₄Fe 0,5 mM (CN)₆, Resazurin 0,15 mM y regulador de fosfato 100 mM) a los pocillos, se incubaron durante 4

horas a 37 °C y 5% de CO₂ antes de que se midieran las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ej. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placas de fluorescencia. En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 µM a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀). Como una pantalla contraria, se realizó el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murino.

5 Ba/F3-FGFR4 (ensayo de proliferación celular)

10 En una placa de 384 pocillos, se pulverizaron 100 nl de dilución del compuesto en DMSO antes de agregar 50 µl de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y 50 µg/ml de gentamicina) que contenían 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/F3-FGFR4. Las células se pusieron en una incubadora a 37 °C y 5% de CO₂. Después de 24 horas, se agregaron 10 µl de solución de Alamar Blue (K₃Fe 0,5 mM (CN)₆, K₄Fe 0,5 mM (CN)₆, Resazurin 0,15 mM y regulador de fosfato 100 mM) a los pocillos, se incubaron durante 4 horas a 37 °C y un 5% de CO₂ antes de que se midieran las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ej. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placas de fluorescencia. En este ensayo, el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de compuestos. (rango de 10 µM a 0.1 nM) se determinó y utilizó para calcular un valor de IC₅₀ (M) y pIC₅₀ (-logIC₅₀) value.

15 Los datos para los compuestos de la invención en los ensayos anteriores se proporcionan en la Tabla A2.

Tabla A2

Comp . No.	1	FGFR 1 pIC50	6.3	FGFR 2 pIC50	6.5	FGFR 3 pIC50	6.1	FGFR 4 pIC50	5.3	VEGF RKDR pIC50	5.6	BAF3- FGFR1 (MIN IL3 pIC50)	5.2	BAF3-FGFR1 (PLUS IL3 pIC50)	<5	BAF3- FGFR3 (MIN IL3 pIC50)	~5.0	BAF3-FGFR3 (PLUS IL3 pIC50)	<5	BAF3-KDR (MIN IL3 pIC50)	<5	BAF3-KDR (PLUS IL3 pIC50)	<5	BAF3- FGFR4 (pIC50)	5.0
---------------	---	--------------------	-----	--------------------	-----	--------------------	-----	--------------------	-----	-----------------------	-----	-----------------------------------	-----	-----------------------------------	----	-----------------------------------	------	-----------------------------------	----	--------------------------------	----	---------------------------------	----	---------------------------	-----

Ensayos biológicos B

Ensayos de unión a enzimas (KINOMEScan®)

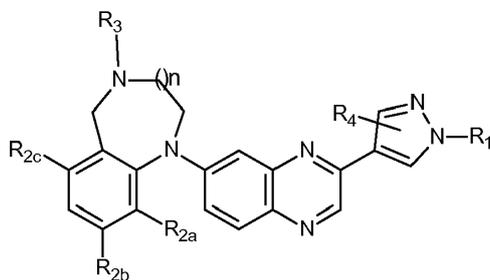
5 Las afinidades de unión a la enzima quinasa de los compuestos divulgados en el presente documento se determinaron utilizando la tecnología KINOMEScan® realizada por DiscoverX Corporation, San Diego, California, EE. UU. (www.kinomescan.com). La Tabla A3 muestra los valores de Kd obtenidos (nM), siendo Kd la constante de enlace del inhibidor:

Tabla A3

Compuesto	Kd FGFR1 (nM)	Kd FGFR2 (nM)	Kd FGFR3 (nM)	Kd FGFR4 (nM)	Kd VEGFR2 (nM)
1	314	674	325	778	>3010
2	17	63	68	68	741
3	720	620	300	1900	>3000
4	740	900	870	>3000	>3000
6	2400	2900	2200	>3000	>3000
7	79	340	170	230	1700
9	54	117	138	355	922

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

que incluye cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

5 n representa un entero igual a 1 o 2;

R₁ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, hidroxilC₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquilo sustituido con -C(=O)NHCH₃, o C₁₋₆alquilo sustituido con -S(=O)₂- C₁₋₄alquilo;

R_{2a} representa hidrógeno, fluoro o cloro;

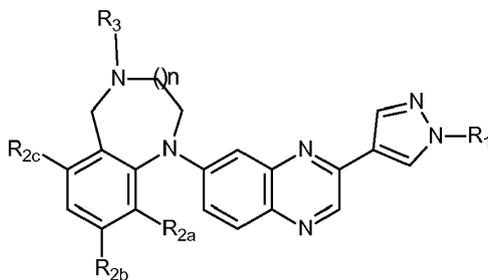
R_{2b} o R_{2c} cada uno representa independientemente metoxi o hidroxil;

10 R₃ representa hidrógeno, C₁₋₆alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, o C₁₋₂alquilo sustituido con C₃₋₆cicloalquilo;

R₄ representa hidrógeno, metilo o etilo;

una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la siguiente estructura

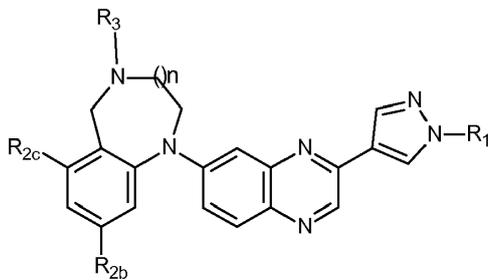


(Ia).

15 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 en donde R_{2a} representa hidrógeno o fluoro.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 en donde R_{2a} representa fluoro.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la siguiente estructura



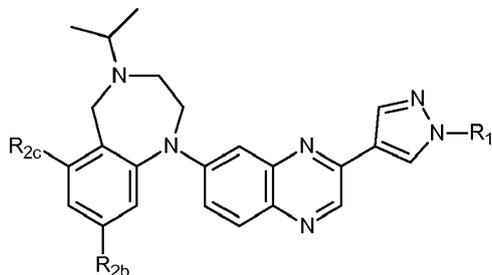
(Ib).

20 6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde n representa un entero igual a 1.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R₃ representa hidrógeno.

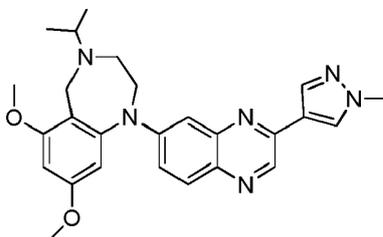
8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde R₃ representa C₁₋₆alquilo, en particular C₁₋₄alquilo.

9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o 8, en donde el compuesto tiene la siguiente estructura



(Ic)

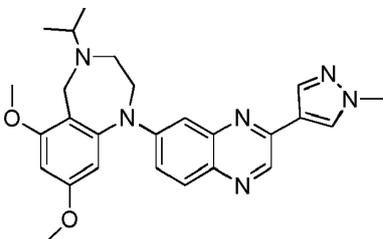
- 5
10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R₁ representa hidrógeno o C₁₋₆alquilo.
11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 en donde R₁ representa C₁₋₆alquilo.
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 en donde R₁ representa metilo.
- 10 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R_{2b} representa metoxi.
14. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en donde R_{2b} representa hidroxilo.
15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R_{2c} representa metoxi.
16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde R_{2c} representa hidroxilo.
17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es



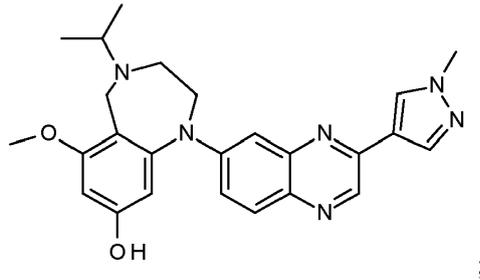
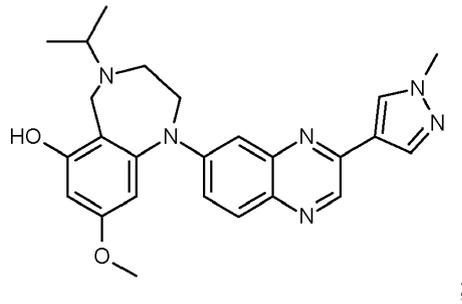
15

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo..

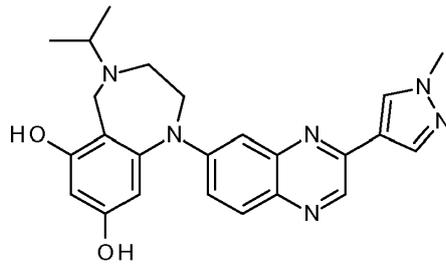
18. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 17 en donde el compuesto es



19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el compuesto se selecciona de

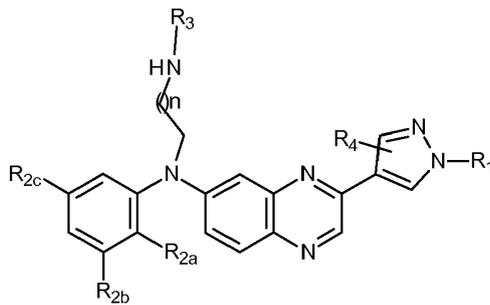


y



- 5 20. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se reivindica en la reivindicación 1, proceso que comprende:

hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



(II)

con formaldehído en presencia de un solvente adecuado, a una temperatura adecuada,

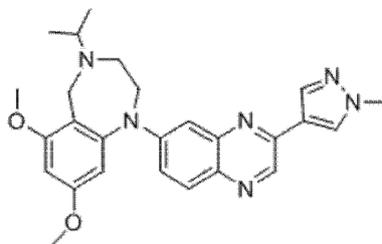
- 10 en donde R_1 , R_{2a} , R_{2b} , R_{2c} , R_3 , R_4 y n son como se definen en la reivindicación 1; y opcionalmente a continuación, convertir un compuesto de fórmula (I) en otro compuesto de fórmula (I).

21. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.

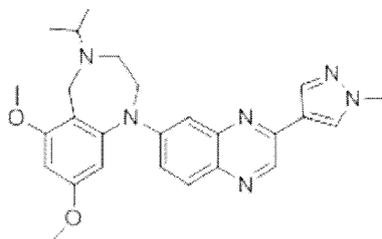
22. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para uso en terapia.

- 15 23. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para uso en la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediada por una FGFR quinasa.

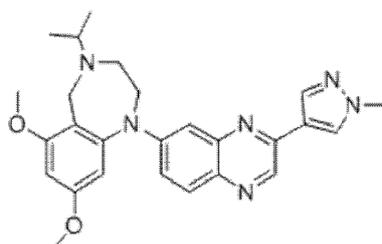
24. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para uso en la profilaxis o tratamiento del cáncer.
25. Un compuesto para su uso en el tratamiento del cáncer de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el cáncer es cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer urotelial metastásico, cáncer urotelial no resecable quirúrgicamente, 5 cáncer de mama, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de célula escamosa, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer cervical, sarcoma de tejido blando, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas del esófago, adenocarcinoma del esófago, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular.
- 10 26. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el cáncer es cáncer urotelial, cáncer urotelial metastásico o cáncer urotelial no resecable quirúrgicamente.
27. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el cáncer es cáncer de vejiga.
28. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 27, en donde el cáncer es un cáncer de vejiga con una translocación cromosómica de FGFR3.
- 15 29. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 27, en donde el cáncer es un cáncer de vejiga con una mutación puntual de FGFR3.
30. Un compuesto para uso en el tratamiento del cáncer de acuerdo con la reivindicación 24, en donde
- (i) el cáncer es un tumor con un mutante de FGFR1, FGFR2, FGFR3 o FGFR4; o
- (ii) el cáncer es un tumor con un mutante de ganancia de función de FGFR2 o FGFR3; o
- 20 (iii) el cáncer es un tumor con sobreexpresión de FGFR1.
31. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el cáncer es un colangiocarcinoma.
32. Un compuesto para uso en el tratamiento del cáncer de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el compuesto es



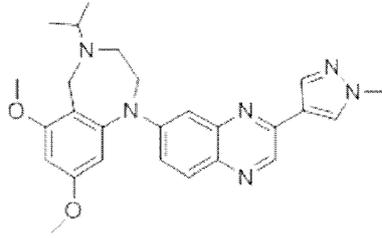
- 25 33. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 25 en donde el compuesto es



34. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29, en donde el compuesto es



35. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el compuesto es



36. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 31, en donde el compuesto es

