

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 845**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.09.2016 PCT/EP2016/072499**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.03.2017 WO17050864**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2016 E 16770011 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3353177**

54 Título: **Heterociclos tricíclicos para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

**23.09.2015 EP 15186491**

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

**15.03.2021**

73 Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)  
Turnhoutseweg 30  
2340 Beerse, BE**

72 Inventor/es:

**ANGIBAUD, PATRICK, RENÉ;  
BROGGINI, DIEGO, FERNANDO, DOMENICO;  
COLOMBEL, HÉLÈNE, FRANCE, SOLANGE;  
CUYCKENS, FILIP, ALBERT, C;  
HOSTYN, STEVEN, ANNA;  
JONES, RUSSELL, MARK;  
QUEROLLE, OLIVIER, ALEXIS, GEORGES y  
VERMEULEN, WIM**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 811 845 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**

Heterociclos tricíclicos para el tratamiento del cáncer

5

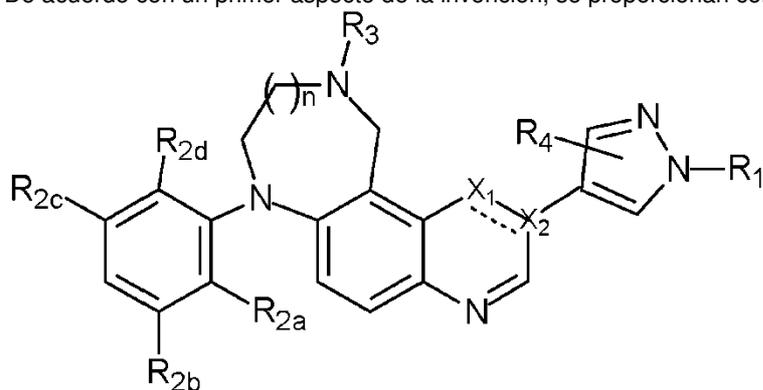
**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

La invención se refiere a nuevos compuestos derivados de quinoxalina, quinolina y quinazolinona, a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a procedimientos para la preparación de dichos compuestos y al uso de dichos compuestos en el tratamiento de enfermedades, p. ej., cáncer.

10

**SUMARIO DE LA INVENCIÓN**

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



(I)

15

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

X <sub>1</sub> es N y X <sub>2</sub> es C	(a);
X <sub>1</sub> es CH y X <sub>2</sub> es C	(b); o
X <sub>1</sub> es C(=O) y X <sub>2</sub> es N	(c);

y en donde la línea de puntos representa un enlace en el caso de (a) y (b) y en donde la línea de puntos está ausente en el caso de (c);

n representa un número entero igual a 1 o 2;

20

R<sub>1</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -C(=O)NHCH<sub>3</sub>, o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro;

R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo;

R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo;

25

R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;

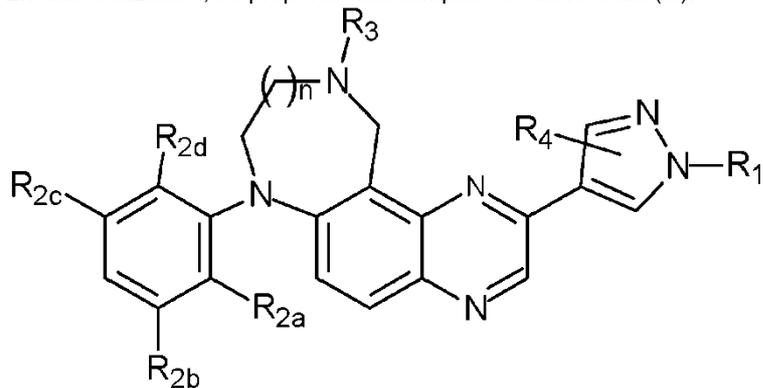
R<sub>3</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sub>4</sub> representa hidrógeno, metilo o etilo;

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

30

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



(Ia)

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

n representa un número entero igual a 1 o 2;

R<sub>1</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -C(=O)NHCH<sub>3</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro;

5 R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo;

R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo;

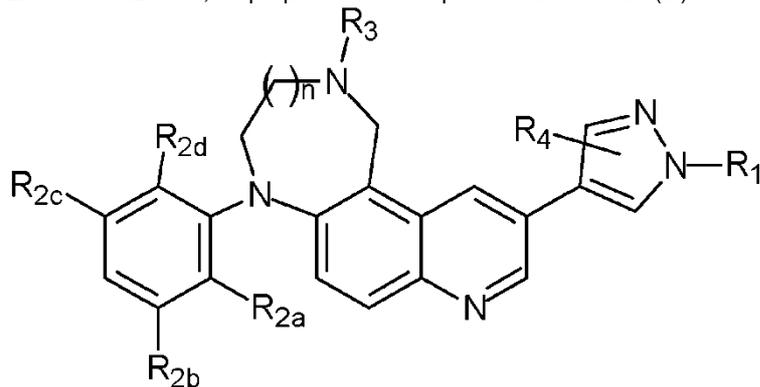
R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;

R<sub>3</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sub>4</sub> representa hidrógeno, metilo o etilo;

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

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



(Ib)

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

15 n representa un número entero igual a 1 o 2;

R<sub>1</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -C(=O)NHCH<sub>3</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro;

R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo;

20 R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo;

R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;

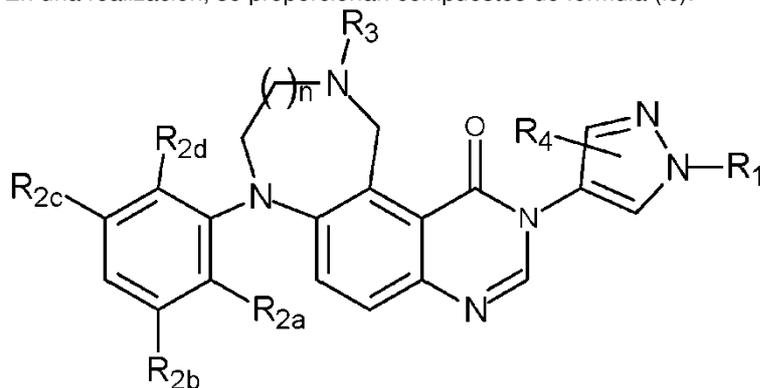
R<sub>3</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sub>4</sub> representa hidrógeno, metilo o etilo;

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

25

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



(Ic)

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

30 n representa un número entero igual a 1 o 2;

R<sub>1</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -C(=O)NHCH<sub>3</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro;

R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo;

R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo;

35 R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;

R<sub>3</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sub>4</sub> representa hidrógeno, metilo o etilo;

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

#### Documentos

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, WO2015/144803, WO2015/144804, WO2015/144808, cada uno de los cuales describe una serie de derivados de heterociclilo.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

A menos que el contexto indique lo contrario, las referencias a la fórmula (I) en todas las secciones de este documento (incluyendo los usos, métodos y otros aspectos de la invención) incluyen referencias a todas las demás sub-fórmulas (p. ej., Ia, Ib, Ic), sub-grupos, preferencias, realizaciones y ejemplos como se definen en esta memoria.

El prefijo "C<sub>x-y</sub>" (en donde x e y son enteros), tal como se utiliza en esta memoria, se refiere al número de átomos de carbono en un grupo dado. Por lo tanto, un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> contiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo C<sub>3-6</sub> contiene de 3 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxialquilo C<sub>1-6</sub> contiene de 1 a 6 átomos de carbono, y así sucesivamente.

El término 'alquilo C<sub>1-2</sub>', 'alquilo C<sub>1-4</sub>' o 'alquilo C<sub>1-6</sub>', tal como se utiliza en esta memoria, como un grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado, lineal o ramificado, que contiene 1 o 2, o de 1 a 4 o de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de grupos de este tipo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec.-butilo, terc.-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo o hexilo y similares.

El término 'cicloalquilo C<sub>3-6</sub>', tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un anillo hidrocarbonado monocíclico saturado de 3 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de grupos de este tipo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo.

El término 'hidroxialquilo C<sub>1-4</sub>' o 'hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>', tal como se utiliza en esta memoria, como un grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> como se define en esta memoria, en el que uno o más de un átomo de hidrógeno está reemplazado por un grupo hidroxilo. Los términos 'hidroxialquilo C<sub>1-4</sub>' o 'hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>' incluyen, por lo tanto, monohidroxialquilo C<sub>1-4</sub>, monohidroxialquilo C<sub>1-6</sub> y también polihidroxialquilo C<sub>1-4</sub> y polihidroxialquilo C<sub>1-6</sub>. Puede haber uno, dos, tres o más átomos de hidrógeno reemplazados por un grupo hidroxilo, por lo que el hidroxialquilo C<sub>1-4</sub> o hidroxialquilo C<sub>1-6</sub> puede tener uno, dos, tres o más grupos hidroxilo. Ejemplos de grupos de este tipo incluyen hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo y similares.

Siempre que se utilice aquí anteriormente o en adelante, los sustituyentes pueden seleccionarse, cada uno independientemente, de una lista de numerosas definiciones, se pretende que todas las combinaciones posibles sean químicamente posibles.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), n representa un número entero igual a 1.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), n representa un número entero igual a 2.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-6</sub>, más en particular metilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>1</sub> representa hidrógeno.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2a</sub> representa fluoro.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2a</sub> representa cloro.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2c</sub> representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> representa metoxi y R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo y R<sub>2c</sub> representa metoxi.

## ES 2 811 845 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos metoxi.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- 10 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>3</sub> representa hidrógeno.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), (Ia), (Ib) o (Ic), R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), se aplican uno o más de los siguientes, en particular todos los siguientes:  
n representa un número entero igual a 1 o 2;
- 20 R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-6</sub>, más en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo;
- R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro;
- R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- 25 R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;
- R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo;
- R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- 30 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), n representa un número entero igual a 2.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), n representa un número entero igual a 1.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>1</sub> representa hidrógeno.
- 35 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>1</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, más en particular metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- 40 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo.
- 45 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> representa metoxi y R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- 50 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo y R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos metoxi.
- 55 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- 60 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>3</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo.
- 65 En una realización, en un compuesto de fórmula (I), R<sub>4</sub> representa hidrógeno.

## ES 2 811 845 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), se aplican uno o más de los siguientes, en particular todos los siguientes:
- n representa un número entero igual a 1 o 2, en particular 1;
- 5 R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-6</sub>, más en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo;
- R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro;
- R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- 10 R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro, e particular fluoro;
- R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo;
- R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), n representa un número entero igual a 2.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), n representa un número entero igual a 1.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>1</sub> representa hidrógeno.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>1</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- 25 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo.
- 30 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> representa metoxi y R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- 35 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo y R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos metoxi.
- 40 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- 45 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>3</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo.
- 50 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), se aplican uno o más de los siguientes, en particular todos los siguientes:
- n representa un número entero igual a 1;
- 55 R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-6</sub>, más en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo;
- R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro;
- R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- 60 R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;
- R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro, en particular hidrógeno o fluoro, más en particular fluoro;
- R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo;
- R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- 65 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), n representa un número entero igual a 2.

## ES 2 811 845 T3

- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), n representa un número entero igual a 1.
- 5 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>1</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>1</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo.
- 10 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo.
- 15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- 20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> representa metoxi y R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo y R<sub>2c</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos metoxi.
- 25 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos hidroxilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.
- 30 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>3</sub> representa hidrógeno.
- 35 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ib), R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- 40 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), se aplican uno o más de los siguientes, en particular todos los siguientes:  
n representa un número entero igual a 1;  
R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-6</sub>, más en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo;  
R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro;  
45 R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;  
R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo, en particular metoxi;  
R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro, en particular hidrógeno o fluoro, más en particular fluoro;  
R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo;  
50 R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), n representa un número entero igual a 2.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), n representa un número entero igual a 1.
- 55 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>1</sub> representa hidrógeno.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>1</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo.
- 60 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> representa metoxi.
- En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo.
- 65 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2c</sub> representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.

5 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> representa metoxi y R<sub>2c</sub> representa hidroxilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> representa hidroxilo y R<sub>2c</sub> representa metoxi.

En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos metoxi.

10 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2b</sub> y R<sub>2c</sub> representan ambos hidroxilo.

En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.

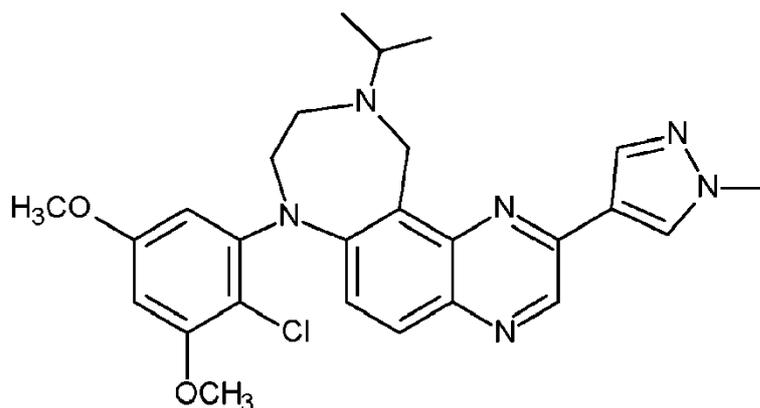
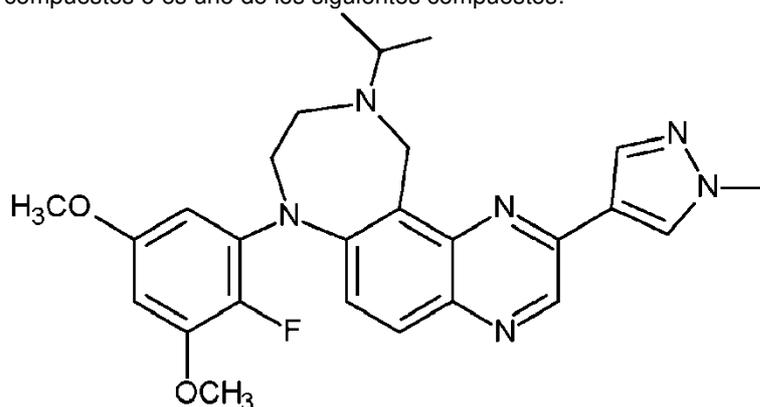
15 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro, en particular fluoro.

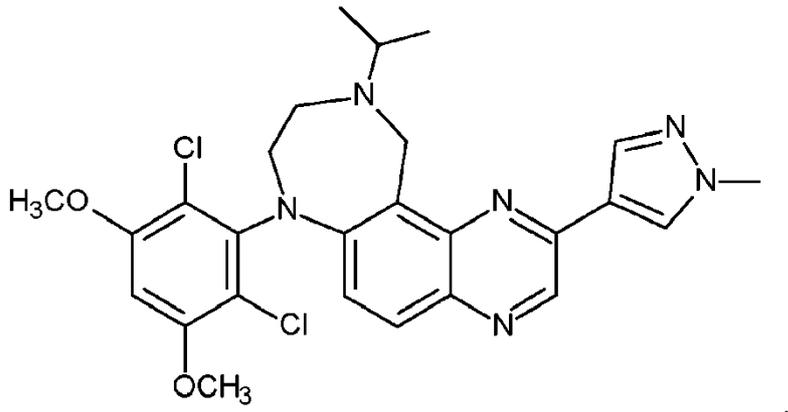
En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>3</sub> representa hidrógeno.

20 En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, en particular alquilo C<sub>1-4</sub>, incluso más en particular metilo o isopropilo, en particular isopropilo.

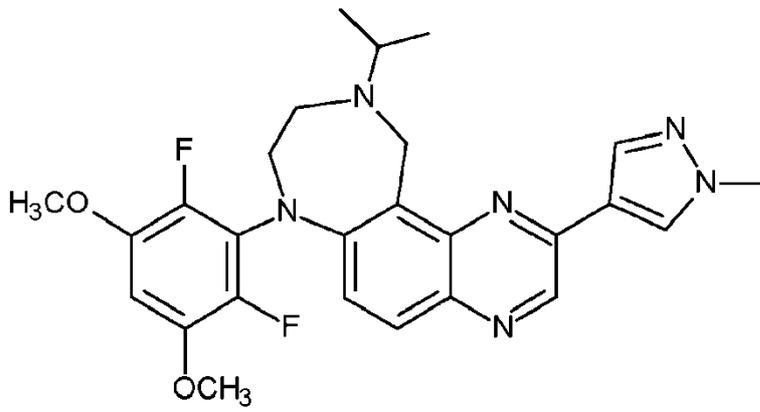
En una realización, en un compuesto de fórmula (Ic), R<sub>4</sub> representa hidrógeno.

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

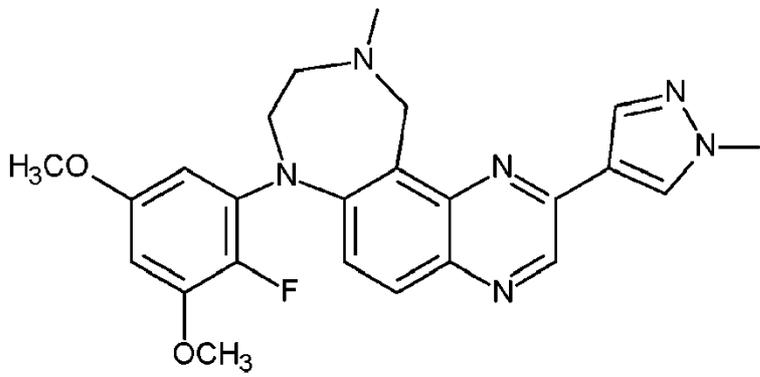




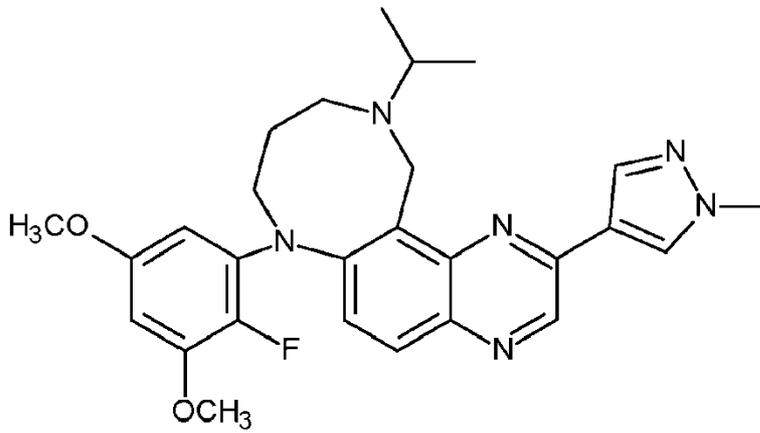
;



;

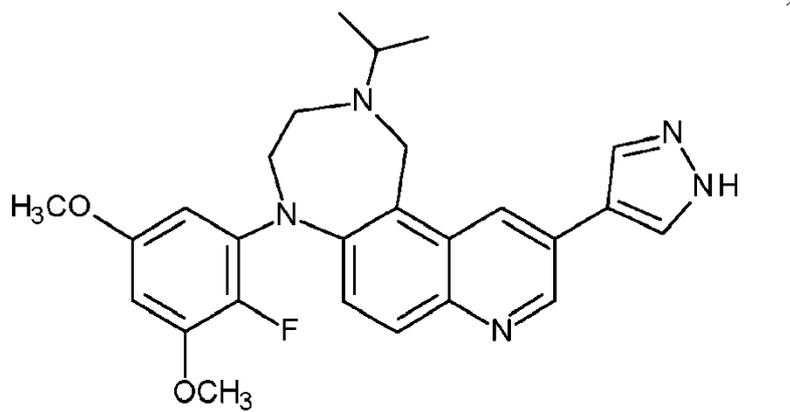
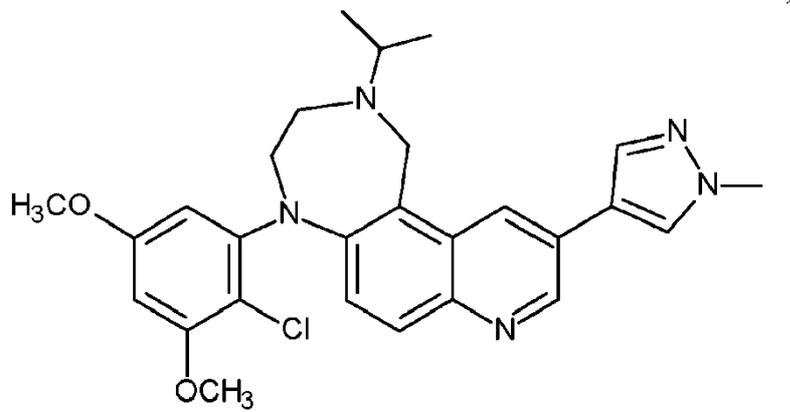
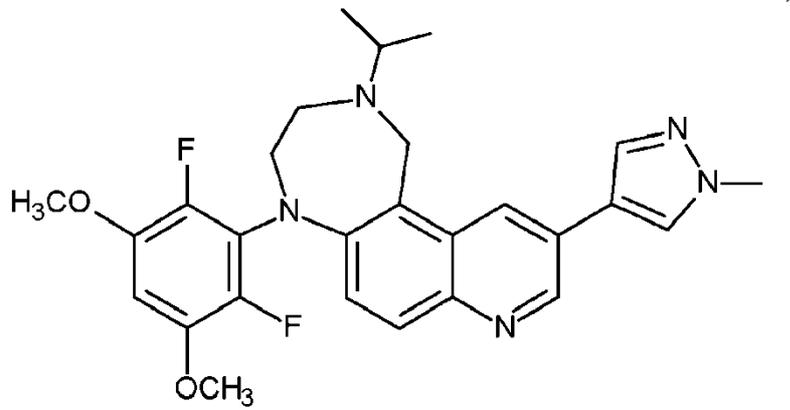
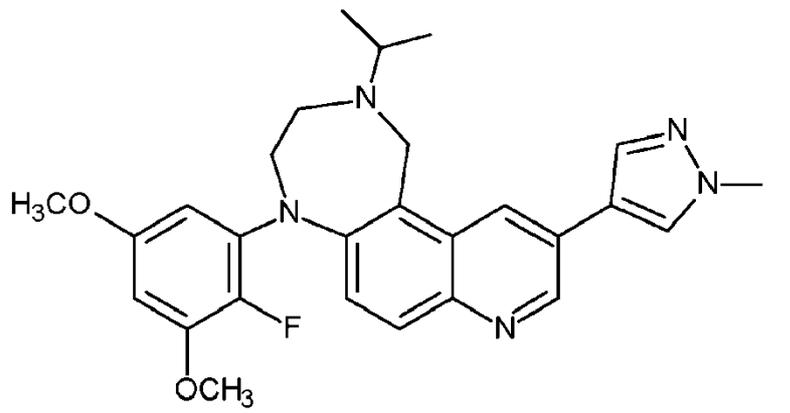


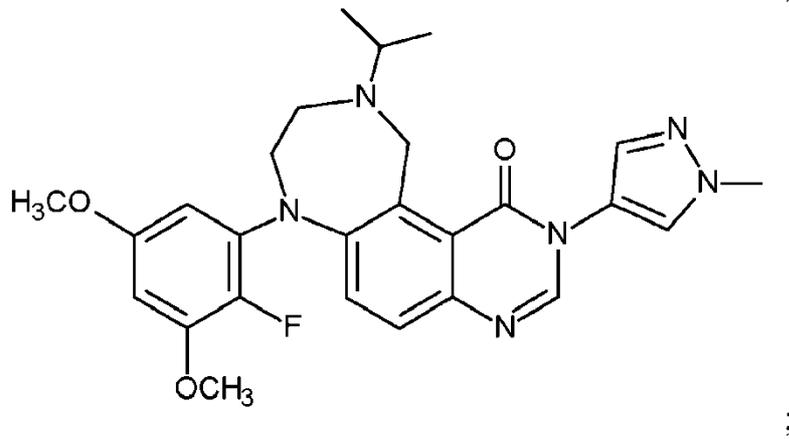
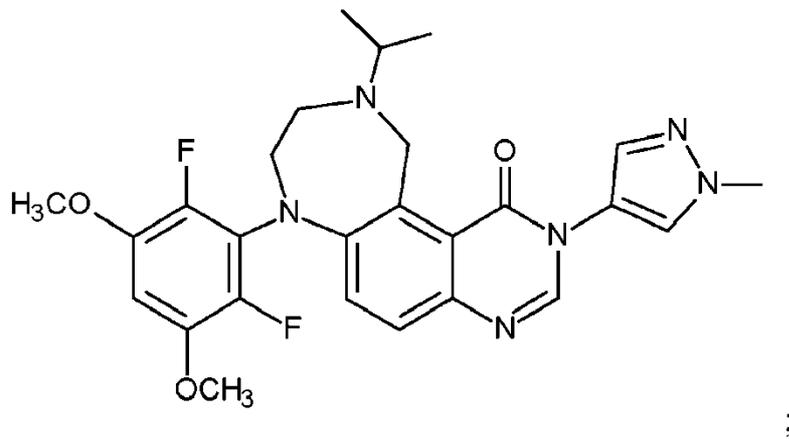
;



;

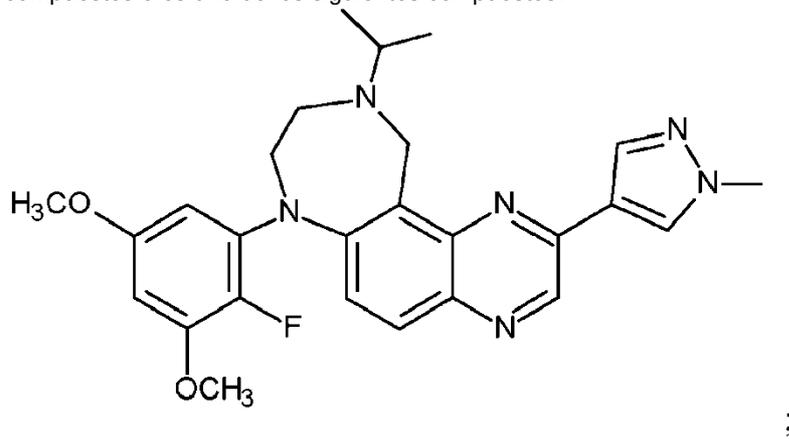


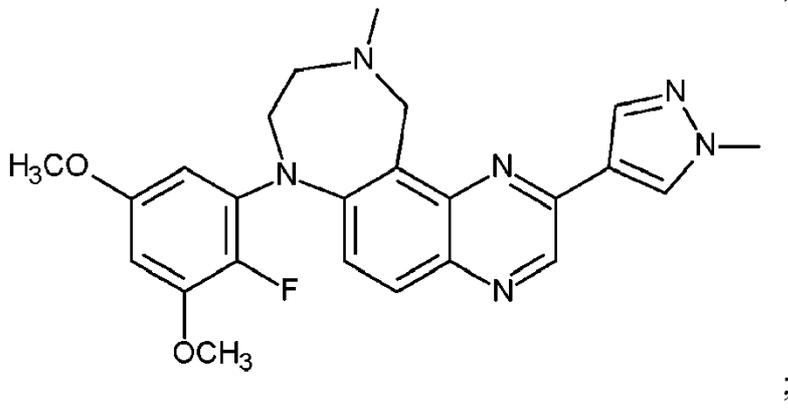
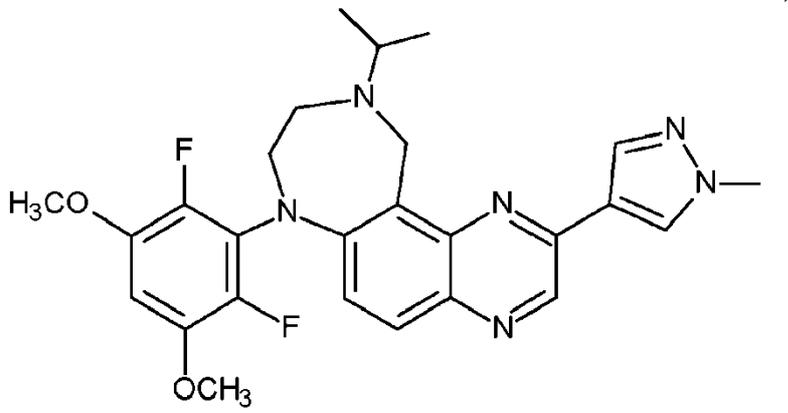
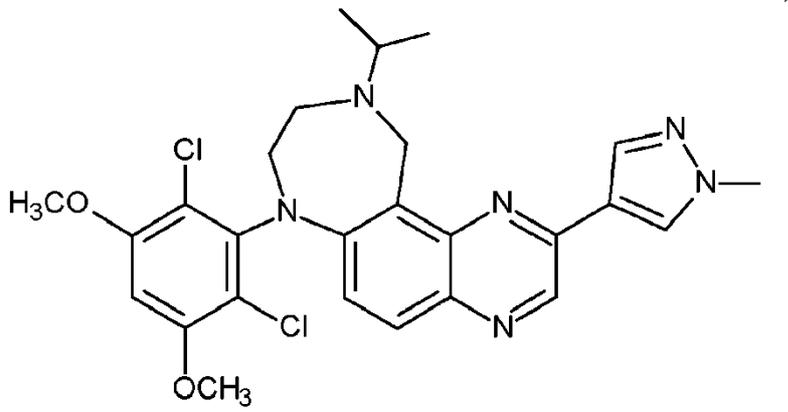
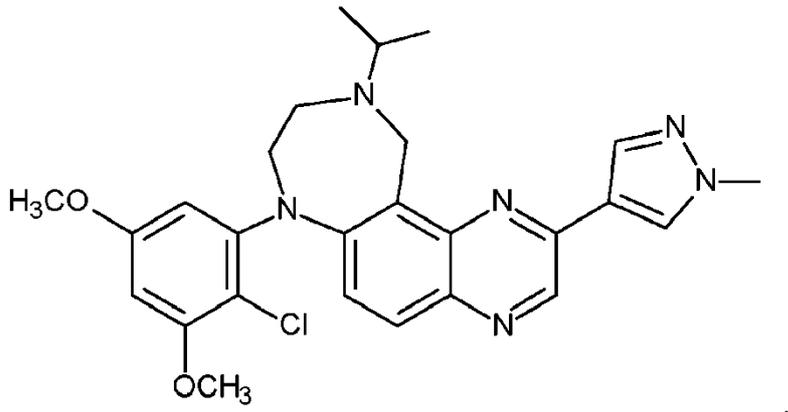


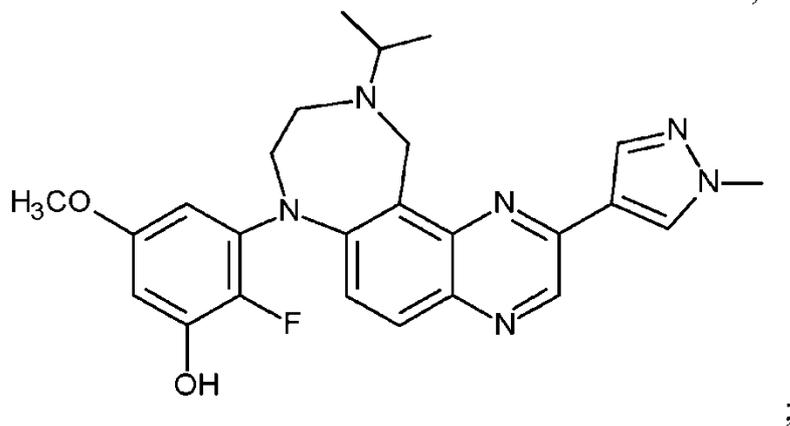
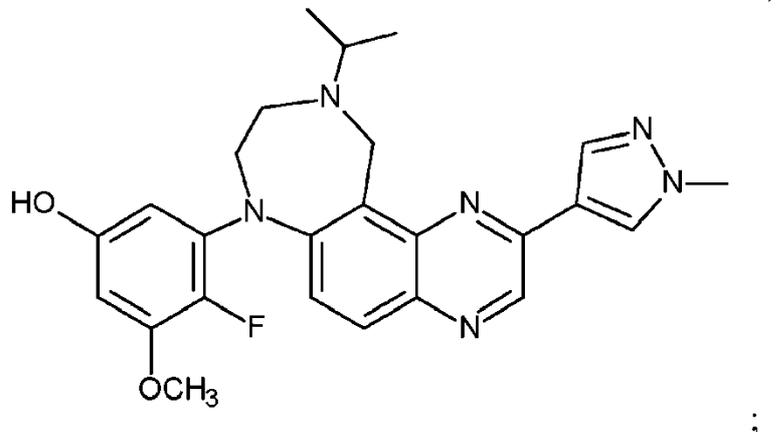
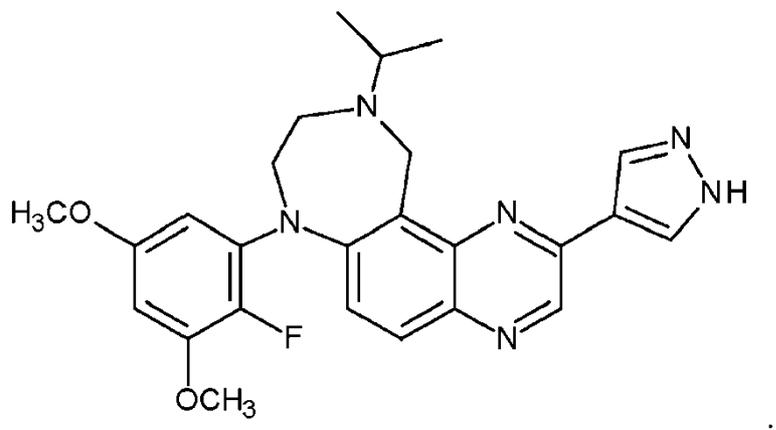
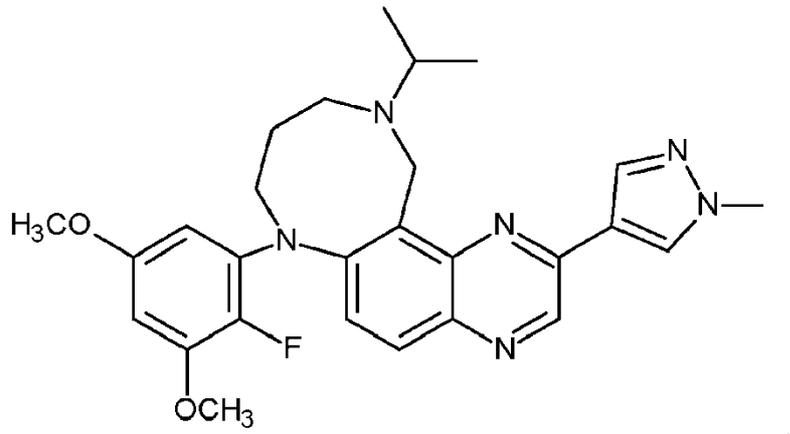


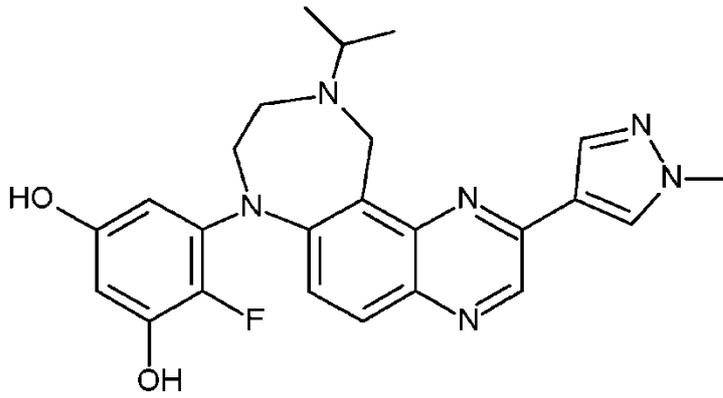
una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

- 5 En una realización, el compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria se selecciona de los siguientes compuestos o es uno de los siguientes compuestos:



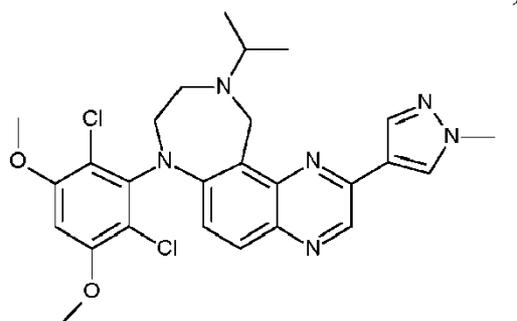
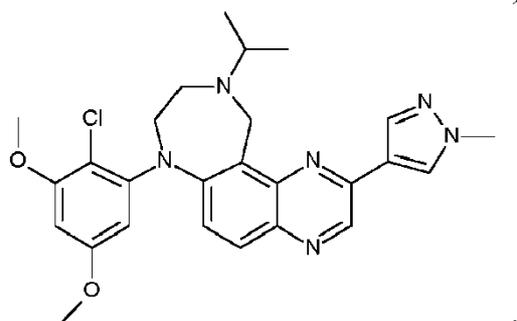
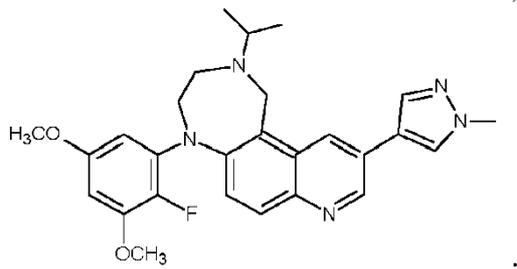
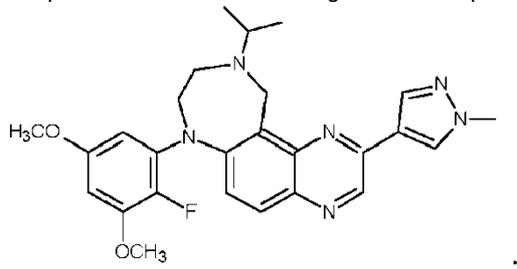


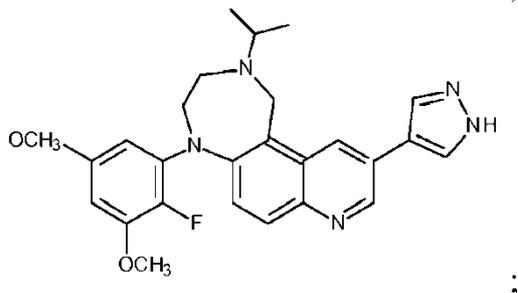
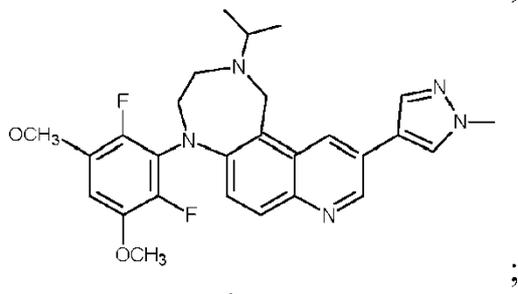
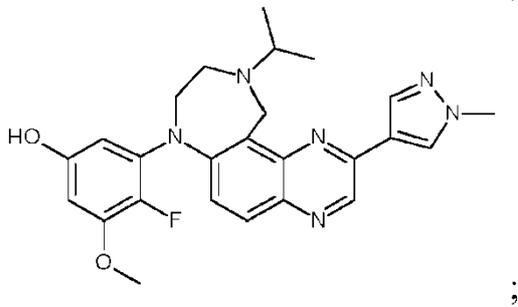
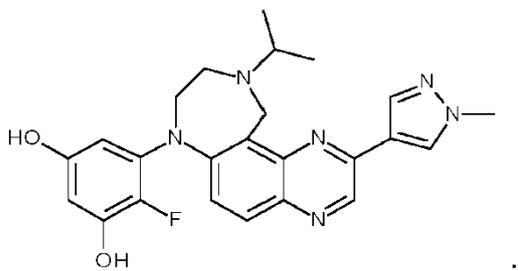
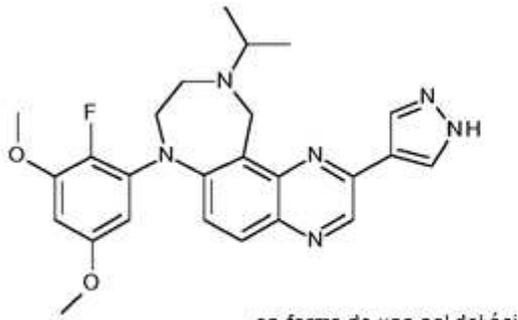
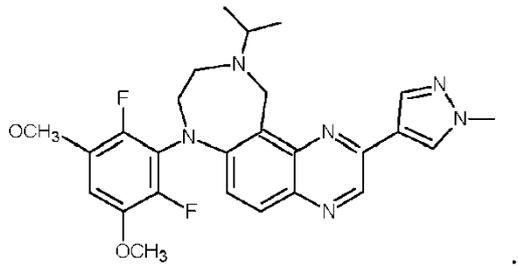




una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

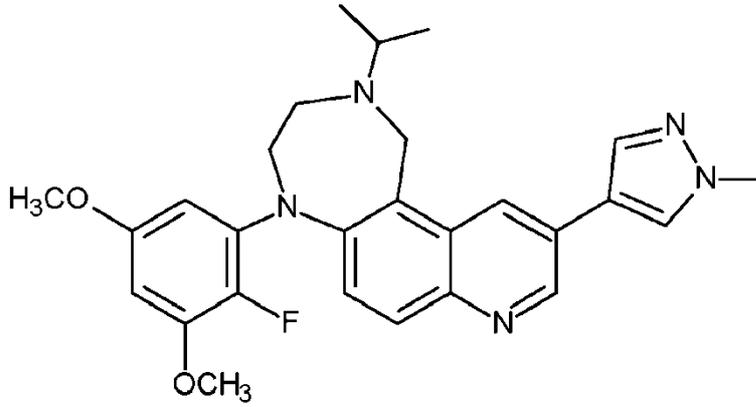
5 En una realización, el compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria se selecciona de los siguientes compuestos o es uno de los siguientes compuestos:





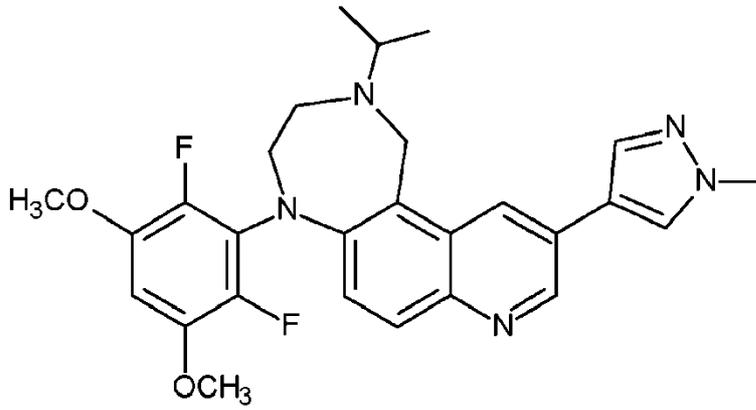
una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

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

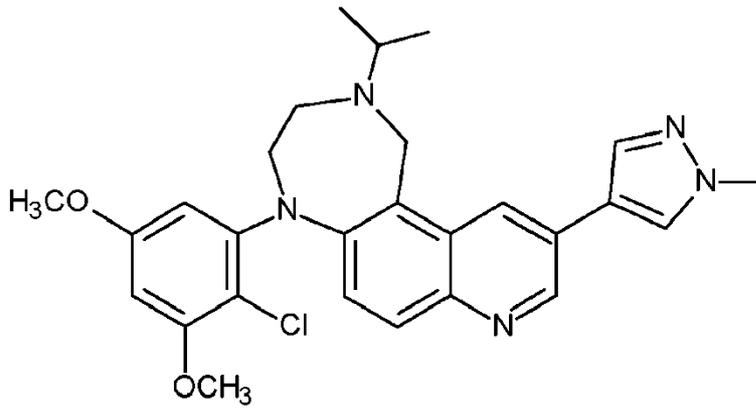


5

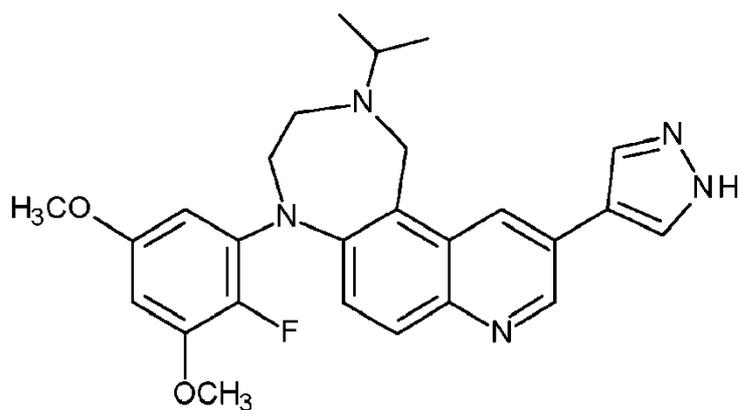
;



;

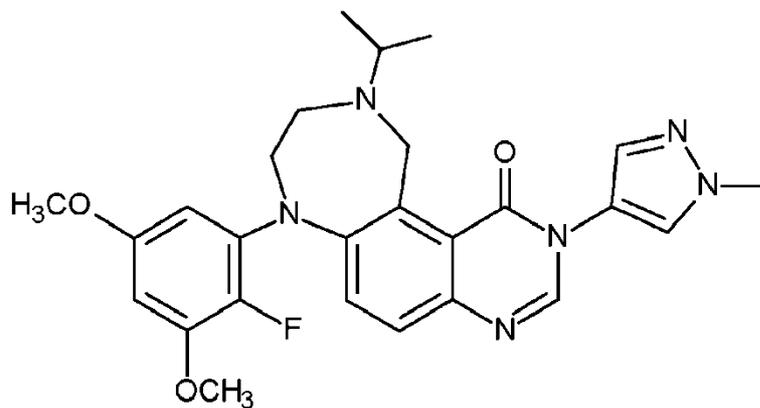
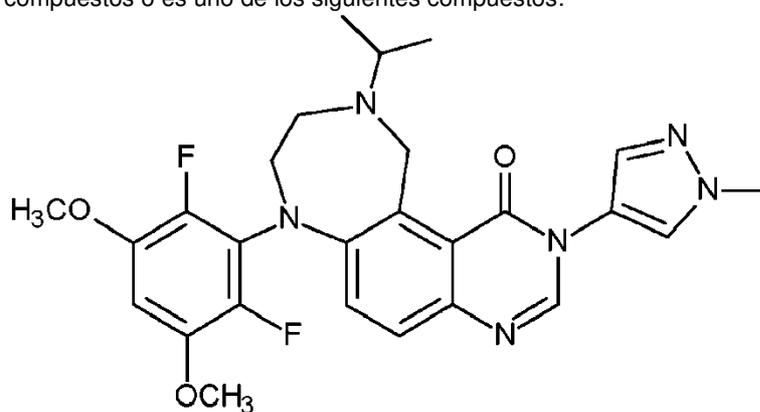


;



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

- 5 En una realización, el compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria se selecciona de los siguientes compuestos o es uno de los siguientes compuestos:



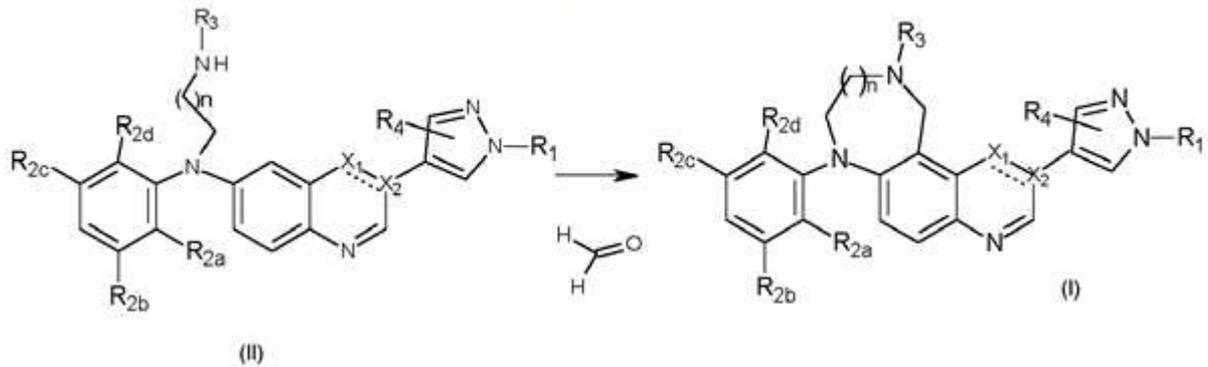
una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

- 10 Para evitar dudas, debe entenderse que cada una de las preferencias generales y específicas, realizaciones y ejemplos para un sustituyente puede combinarse con cada una de las preferencias generales y específicas, realizaciones y ejemplos para uno o más, preferiblemente, todos los demás sustituyentes tal como se definen en esta memoria y que todas estas realizaciones están abarcadas por esta solicitud.

#### Métodos para la Preparación de Compuestos de Fórmula (I)

- 15 En esta sección, al igual que en todas las demás secciones de esta solicitud, a menos que el contexto indique lo contrario, referencias a la fórmula (I) también incluyen todos los demás sub-grupos y ejemplos de los mismos tal como se definen en esta memoria.

- 20 En general, compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con el siguiente esquema de reacción 1.

**Esquema 1**

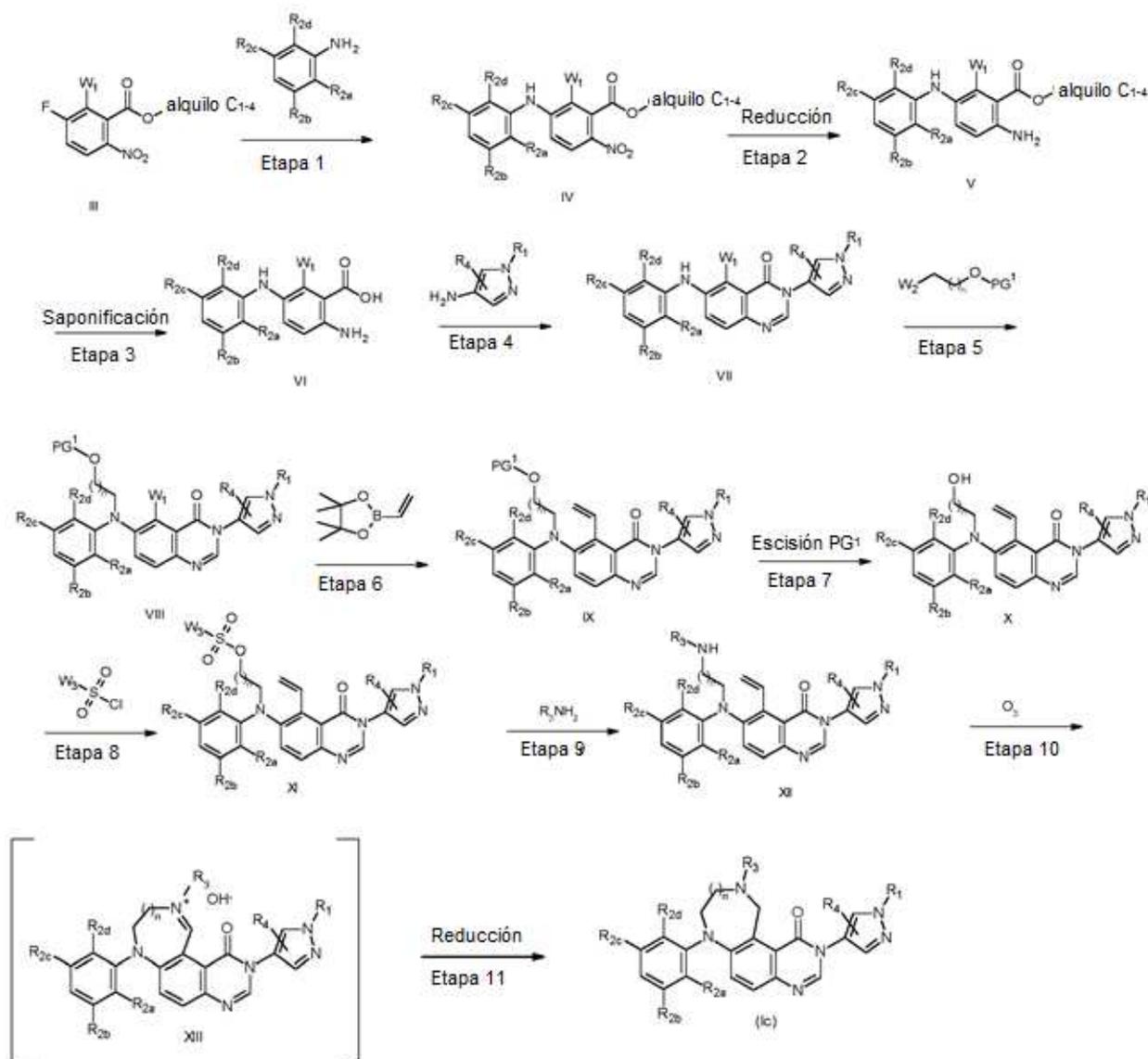
En el Esquema 1, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

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

5

En general, compuestos de fórmula (Ic) se pueden preparar de acuerdo con el siguiente Esquema de reacción 2. En el Esquema 2,  $W_1$  representa un grupo lábil adecuado, tal como por ejemplo Cl o Br;  $W_2$  representa un grupo lábil adecuado tal como, por ejemplo, Cl, Br o I;  $PG^1$  representa un grupo protector adecuado tal como, por ejemplo, *tert*-(butoxicarbonilo);  $PG^2$  representa un grupo protector adecuado tal como, por ejemplo, *tert*-butil-dimetilsililo; y  $W_3$  representa alquilo  $C_{1-4}$  o toliilo.

10

**Esquema 2**

En el Esquema 2, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

- 5 1: en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, carbonato de cesio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo o metiltetrahidrofurano, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, en el intervalo desde la temperatura ambiente hasta el reflujo;
- 2: en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de estaño, en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol, p. ej., etanol;
- 10 Alternativamente, en presencia de hierro, en presencia de un ácido adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de amonio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, una mezcla de metiltetrahidrofurano/metanol y agua;
- 3: en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, hidróxido de litio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, una mezcla de metiltetrahidrofurano y agua, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, en el intervalo desde la temperatura ambiente hasta 60°C;
- 15 4: en presencia de un reactivo adecuado tal como, por ejemplo, ortoformiato de trietilo, un ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido acético, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, tolueno, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, reflujo;
- 5: en presencia de un agente desprotonante adecuado tal como, por ejemplo, hidruro de sodio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, dimetilformamida;
- 20 6: en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0), una base adecuada tal como, por ejemplo, carbonato de sodio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, una mezcla de dioxano y agua;

7: en presencia de un agente desprotector adecuado tal como, por ejemplo, un agente desililante adecuado, p. ej., fluoruro de tetrabutilamonio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, Metiltetrahidrofurano;

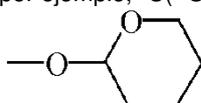
8: en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, trimetilamina o diisopropilamina, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, diclorometano;

5 9: en ausencia de un disolvente o en presencia de un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, reflujo, opcionalmente en condiciones selladas;

10: en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, sulfuro de dimetilo, y a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo,  $-78^{\circ}\text{C}$ ;

10 11: en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, triacetoxiborohidruro, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol, p. ej., metanol.

Se considera que está dentro del conocimiento de la persona experta 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  $\text{R}_1$  o en el resto pirazol, o grupo protector en el sustituyente  $\text{R}_3$  o en el sustituyente  $\text{R}_{2a,b,c}$  o combinaciones de los mismos. También se considera que la persona experta puede reconocer el grupo protector más factible tal como, por ejemplo,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{alquilo } \text{C}_{1-4}$  o



u  $\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$

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

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden convertir entre sí mediante reacciones o transformaciones de grupos funcionales conocidas en la técnica. Compuestos de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa hidrógeno, se puede convertir en un compuesto de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa alquilo  $\text{C}_{1-6}$  o hidroxialquilo  $\text{C}_{1-6}$ , por reacción con alquil  $\text{C}_{1-6}-\text{W}$  o hidroxialquil  $\text{C}_{1-6}-\text{W}$ , en donde  $\text{W}$  representa un grupo lábil adecuado tal como, por ejemplo, halo, p. ej., bromo y similares, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, hidruro de sodio o carbonato de potasio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo o *N,N*-dimetilformamida.

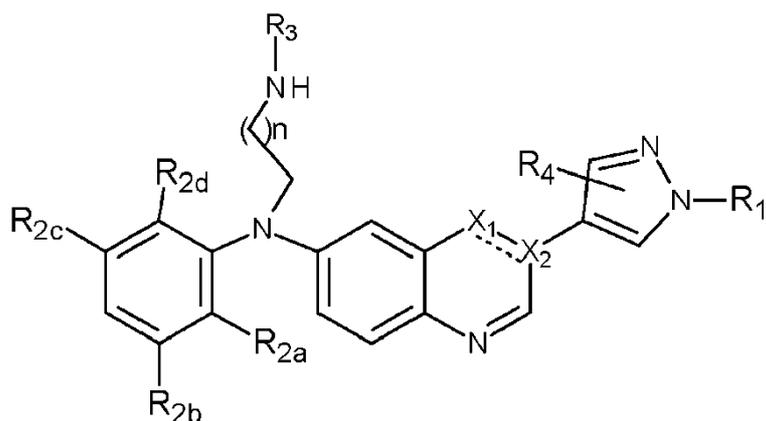
25 Compuestos de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa hidrógeno, también se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa alquil  $\text{C}_{1-6}-\text{OH}$ , por reacción con  $\text{W}-\text{alquil } \text{C}_{1-6}-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_2(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$  en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, hidruro de sodio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, seguido de una reacción de desprotección del grupo protector sililo por métodos conocidos en la técnica. Compuestos de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa hidrógeno, también se pueden convertir en un compuesto de fórmula (I), en donde  $\text{R}_1$  representa etilo sustituido con  $-\text{S}(=\text{O})_2-\text{alquilo } \text{C}_{1-4}$ , por reacción con alquil  $\text{C}_{1-4}$ -vinilsulfona, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, trietilamina, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol, p. ej., metanol o por reacción con alquil  $\text{C}_{1-4}$ -2-bromoetilsulfona en presencia de un agente desprotonante adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{NaH}$ , y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, dimetilformamida.

35 Compuestos de fórmula (I), en donde  $\text{R}_{2b}$  o  $\text{R}_{2c}$  representan  $-\text{OCH}_3$  pueden convertirse en un compuesto de fórmula (I) en donde  $\text{R}_{2b}$  o  $\text{R}_{2c}$  representa  $-\text{OH}$ , por reacción con tribromuro de boro en presencia de un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, diclorometano. Los compuestos de fórmula (I), en donde  $\text{R}_{2b}$  o  $\text{R}_{2c}$  representa  $-\text{OH}$  pueden convertirse en un compuesto de fórmula (I) en donde  $\text{R}_{2b}$  o  $\text{R}_{2c}$  representa  $-\text{OCH}_3$  por reacción con metil yodo en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, carbonato de potasio, y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida.

45 Compuestos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar tal como se describe en los documentos WO2011/135376, WO2013/061074 y WO2014/174307.

Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria, procedimiento que comprende:

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



(II)

en donde la línea de puntos  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $R_1$ ,  $R_{2a}$ ,  $R_{2b}$ ,  $R_{2c}$ ,  $R_{2d}$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  y  $n$  son como se definen en esta memoria; y opcionalmente después convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro compuesto de la fórmula (I).

**Sales, Solvatos o Derivados Farmacéuticamente Aceptables de los mismos**

5

En esta sección, al igual que en todas las demás secciones de esta solicitud, a menos que el contexto indique lo contrario, referencias a la fórmula (I) también incluyen todos los demás sub-grupos, preferencias, realizaciones y ejemplos de los mismos tal como se definen en esta memoria.

10 A menos que se especifique lo contrario, una referencia a un compuesto particular también incluye formas iónicas, sales, solvatos, isómeros, tautómeros, ésteres, profármacos, isótopos y formas protegidas de los mismos, por ejemplo tal como se comenta más adelante; preferiblemente, las formas iónicas, o sales o tautómeros o isómeros o solvatos de los mismos; y más preferiblemente, las formas iónicas, o sales o tautómeros o solvatos o formas protegidas 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 por adición de ácidos o, en determinados casos, sales de bases orgánicas e inorgánicas tales como sales carboxilato, sulfonato y fosfato. Todas estas sales están dentro del alcance de esta invención, y las referencias a compuestos de la fórmula (I) incluyen las formas de sales de los compuestos. Se apreciará que las referencias a "derivados" incluyen referencias a formas iónicas, sales, solvatos, isómeros, tautómeros, ésteres, profármacos, isótopos y formas protegidas de los mismos.

20

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

25

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, págs. 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. Formas de sales no farmacéuticamente aceptables de este tipo, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención, también forman parte de la invención.

30

Las sales de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto precursor que contiene un resto de carácter ácido o básico 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, Encuadernación cartoné, 388 páginas, Agosto de 2002. Generalmente, sales de este tipo pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, 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.

40

Sales por adición de ácidos pueden formarse con una amplia diversidad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Ejemplos de sales por adición de ácidos incluyen sales formadas con un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácidos acético, 2,2-dicloroacético, adípico, alginico, ascórbico (p. ej., L-ascórbico), L-aspártico, benzenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) alcanfórico, alcanfor-sulfónico, (+)-(1S)-alcanfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico,

45

glucurónico (p. ej., D-glucurónico), glutámico (p. ej., L-glutámico,  $\alpha$ -oxoglutámico glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isetiónico, láctico (p. ej. (+)-L-láctico, ( $\pm$ )-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, ( $\pm$ )-DL-mandélico, metanosulfónico, naftalenosulfónico (p. ej., 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, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiocianico, toluenosulfónico (p. ej., *p*-toluenosulfónico), undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

Un grupo particular de sales consiste en sales formadas a partir de los ácidos acético, clorhídrico, yodhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, láctico, succínico, maleico, málico, isetiónico, fumárico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, naftalenosulfónico, acético, propanoico, butanoico, malónico, glucurónico y lactobiónico. Otro grupo de sales por adición de ácidos incluye sales formadas a partir de ácidos acético, adípico, ascórbico, aspártico, cítrico, DL-láctico, fumárico, glucónico, glucurónico, hipúrico, clorhídrico, glutámico, DL-málico, metanosulfónico, sebácico, 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  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , cationes de metales alcalinotérreos, tales como  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , y otros cationes, tales como  $\text{Al}^{3+}$ . Ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones amonio (es decir,  $\text{NH}_4^+$ ) e iones amonio sustituidos (p. ej.,  $\text{NH}_3\text{R}^+$ ,  $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ ,  $\text{NHR}_3^+$ ,  $\text{NR}_4^+$ ).

Ejemplos de algunos iones 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  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ .

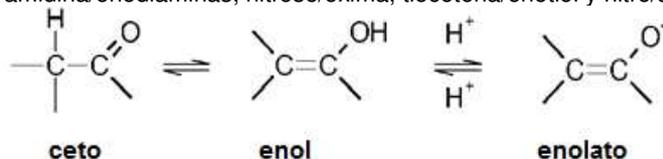
En los casos en los que los compuestos de fórmula (I) contienen una función amina, estos pueden formar sales de amonio cuaternario, por ejemplo, mediante reacción con un agente alquilante de acuerdo con métodos bien conocidos por la persona experta. Compuestos de amonio cuaternario de este tipo están dentro del alcance de la fórmula (I). Compuestos de la fórmula (I) que contienen una función amina también pueden formar N-óxidos. Una referencia en esta memoria a un compuesto de fórmula (I) que contiene una función amina también incluye el N-óxido. En los casos en los que un compuesto contiene varias funciones amina, 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 pueden formarse mediante el tratamiento de la amina correspondiente con un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno o un perácido (p. ej., un ácido peroxicarboxílico), véase, por ejemplo, *Advanced Organic Chemistry*, de Jerry March, 4ª Edición, Wiley Interscience, páginas. Más particularmente, N-óxidos pueden prepararse mediante el procedimiento de L. W. Deady (*Syn. Comm.* (1977), 7, 509-514 en el que el compuesto de amina se hace reaccionar con ácido *m*-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por ejemplo, en un disolvente inerte, tal como diclorometano.

Los compuestos de la invención pueden formar solvatos, por ejemplo con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes. Tal como se utiliza en esta memoria, el término "solvato" significa una asociación física de los compuestos de la presente invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica diversos grados de enlace iónico y covalente, incluido el enlace de hidrógeno. En determinados casos, el solvato será capaz de aislarse, por ejemplo, cuando se incorporan una o más moléculas de disolvente 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.

Los solvatos son bien conocidos en la química farmacéutica. Pueden ser importantes para los procedimientos de preparación de una sustancia (p. ej., en relación con su purificación, el almacenamiento de la sustancia (p. ej., su estabilidad) y la facilidad de manipulación de la sustancia y, a menudo, se forman como parte de las etapas de aislamiento o purificación de una síntesis química. Una persona experta en la técnica puede determinar mediante técnicas estándares y utilizadas durante tiempo 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 técnicas de este tipo incluyen análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), cristalografía de rayos X (p. ej., cristalografía de rayos X de cristal único o difracción de rayos X en polvo) y RMN de estado sólido (SS-RMN, también conocida como RMN de giro en el ángulo mágico o MAS-RMN). Técnicas de este tipo son una parte del conjunto de herramientas analíticas estándares del químico experto, tales como RMN, IR, HPLC y MS. Alternativamente, la persona experta puede formar deliberadamente un solvato utilizando condiciones de cristalización de lisis que incluyen una cantidad del disolvente requerida para el solvato particular. Después, los métodos estándares arriba descritos pueden utilizarse para establecer si se formaron solvatos. La fórmula (I) también abarca cualesquiera complejos (p. ej., complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclodextrinas o complejos con metales) de los compuestos.

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

5 Compuestos de la fórmula (I) pueden existir en un cierto número de formas isoméricas geométricas diferentes, y las formas tautoméricas y las referencias a compuestos de la fórmula (I) incluyen todas esas formas. Para evitar dudas, en los casos en los que un compuesto puede existir en una de varias formas geométricas isoméricas o tautoméricas y solo una se describe o muestra específicamente, todas las demás están sin embargo incluidas en la fórmula (I). Otros ejemplos de formas tautoméricas incluyen, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, tales como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado más adelante), imina/enamina, amida/imino/alcohol, 10 amidina/enodiaminas, nitroso/oxima, tiocetona/enetiolo y nitro/aci-nitro.



En los casos en los que 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 compuestos de la fórmula (I) incluyen todas sus formas isoméricas ópticas (p. ej., enantiómeros, epímeros y diastereoisómeros), ya sea como isómeros ópticos individuales o como mezclas (p. ej., mezclas racémicas) de dos o más isómeros ópticos, a menos que el contexto requiera lo contrario. 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 y Prelog, véase *Advanced Organic Chemistry* de Jerry March, 4ª Edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1992, páginas 109-114, y véase también Cahn, Ingold y Prelog (1966) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 5, 385-415. Los isómeros ópticos se pueden separar mediante un cierto número de técnicas que incluyen la cromatografía quiral (cromatografía sobre un soporte quiral) y este tipo de técnicas son bien conocidas por la persona experta 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-toluiloil-L-tartárico, ácido (+)-mandélico, ácido (-)-málico y (-)-alcanforsulfónico, separando los diastereoisómeros por cristalización preferencial, y luego disociando las sales para dar el enantiómero individual de la base libre.

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

Siempre que, antes o después, los compuestos incluyan el siguiente enlace



, esto indica que el compuesto es un estereoisómero único con configuración desconocida o una mezcla de estereoisómeros.

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  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  (D) y  $^3\text{H}$  (T). De manera similar, las referencias al carbono y al oxígeno incluyen dentro de su alcance, respectivamente,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}$  y  $^{16}\text{O}$  y  $^{18}\text{O}$ . Los isótopos pueden ser radiactivos o no radiactivos. En una realización de la invención, los compuestos no contienen isótopos radiactivos. Compuestos de este tipo se prefieren para uso terapéutico. En otra realización, sin embargo, el compuesto puede contener uno o más radioisótopos. Los compuestos que contienen dichos radioisótopos pueden ser útiles en un contexto de diagnóstico.

Ésteres, tales como los ésteres del ácido carboxílico y los ésteres aciloxi de los compuestos de fórmula (I) que portan un grupo ácido carboxílico o un grupo hidroxilo también están abarcados por la fórmula (I). En una realización de la invención, la fórmula (I) incluye dentro de su alcance ésteres de compuestos de la fórmula (I) que portan un grupo hidroxilo. En otra realización de la invención, la fórmula (I) no incluye dentro de su alcance ésteres

de compuestos de la fórmula (I) que portan un grupo hidroxilo. Ejemplos de grupos aciloxi (éster inverso) están representados por  $-OC(=O)R$ , en donde R es un sustituyente aciloxi, por ejemplo, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterocíclico  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferiblemente un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Ejemplos particulares de grupos aciloxi incluyen, pero no se limitan a  $-OC(=O)CH_3$  (acetoxi),  $-OC(=O)CH_2CH_3$ ,  $-OC(=O)C(CH_3)_3$ ,  $-OC(=O)Ph$  y  $-OC(=O)CH_2Ph$ .

Por ejemplo, algunos profármacos son ésteres del compuesto activo (p. ej., un éster metabólicamente lábil fisiológicamente aceptable). Por "profármacos" se entiende, por ejemplo, cualquier compuesto que se convierte *in vivo* en un compuesto biológicamente activo de la fórmula (I). Durante el metabolismo, el grupo éster se escinde para producir el fármaco activo. Ésteres de este tipo pueden formarse por esterificación, por ejemplo, de cualquiera de los grupos hidroxilo en el compuesto precursor, con, en los casos en los que sea apropiado, protección previa de cualesquiera otros grupos reactivos presentes en el compuesto precursor, seguido de desprotección si se requiere.

Ejemplos de ésteres metabólicamente lábiles de este tipo incluyen aminoalquilo  $C_{1-6}$  [p. ej., aminoetilo; 2-(N,N-dietilamino)etilo; 2-(4-morfolino)etilo]; y aciloxi-alquilo  $C_{1-7}$  [p. ej., aciloximetilo; aciloxietilo; pivaloioximetilo; acetoximetilo, 1-acetoxietilo; 1-(1-metoxi-1-metil)etil-carboniloxietilo; 1-(benzoiloxi)etilo; isopropoxicarboniloximetilo; 1-isopropoxi-carboniloxietilo; ciclohexil-carboniloximetilo, 1-ciclohexil-carboniloxietilo; ciclohexiloxi-carboniloximetilo, 1-ciclohexiloxi-carboniloxietilo; (4-tetrahidropiraniloxi) carboniloximetilo; 1-(4-tetrahidropiraniloxi)carboniloxietilo; (4-tetrahidropiranil)carboniloximetilo; y 1-(4-tetrahidropiranil)carboniloxietilo]. También, algunos profármacos se activan enzimáticamente para producir el compuesto activo, o un compuesto que, tras una reacción química adicional, produce el compuesto activo (por ejemplo, como en la terapia con profármacos con enzima dirigida al antígeno (ADEPT), terapia con profármacos con enzima dirigida al gen (GDEPT) y terapia con profármacos con enzima dirigida al ligando (LIDEPT) etc.). Por ejemplo, el profármaco puede ser un derivado de azúcar u otro conjugado de glicósido, o puede ser un derivado de éster de aminoácido.

#### **Proteína Tirosina Quinasas (PTK)**

Los compuestos de la invención descritos en esta memoria inhiben o modulan la actividad de determinadas tirosina quinasas y, por lo tanto, los compuestos serán útiles en el tratamiento o la profilaxis, en particular el tratamiento, de estados o afecciones mediadas por esas tirosina quinasas, en particular FGFR.

#### **FGFR**

La familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) de los receptores de proteína tirosina quinasa (PTK) regula una amplia gama de funciones fisiológicas que incluyen mitogénesis, cicatrización de heridas, diferenciación celular y angiogénesis y desarrollo. Tanto el crecimiento de células normales como malignas, así como la proliferación se ven afectados por cambios en la concentración local de FGFs, 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 cánceres dependientes de hormonas esteroideas a un estado hormonal independiente. Los FGFs y sus receptores se expresan a niveles incrementados en varios tejidos y líneas celulares y se cree que la sobreexpresión contribuye en el fenotipo maligno. Además, un cierto número de oncogenes son homólogos de genes que codifican receptores de factores de crecimiento, y existe el potencial de una 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 Cancer 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 FGFs se transmite a través de cuatro tipos de receptores de factor de crecimiento de fibroblastos de proteína tirosina quinasa de 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 proliferantes. La sobre-expresión y activación de FGFR1 en la vasculatura asociada a tumores ha sugerido un papel para estas moléculas en la angiogénesis tumoral.

Un estudio reciente ha demostrado un vínculo 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, al tiempo que conservan la expresión del receptor de estrógenos. Se demostró una amplificación génica de 8p12-p11.2 en aproximadamente el 50% de los casos de CLC y esto se demostró que estaba relacionado con una expresión incrementada de FGFR1. Estudios preliminares con ARNip dirigido contra FGFR1, o un inhibidor de moléculas pequeñas del receptor demostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización. El rabdomiosarcoma (RMS) es el sarcoma pediátrico de tejido blando más común que probablemente se deba a la proliferación y diferenciación anormales durante la miogénesis del esqueleto. FGFR1 se sobre-expresa en tumores primarios de rabdomiosarcoma y se asocia con la hipometilación de una isla CpG 5' y la expresión anormal de los genes AKT1, NOG y BMP4. El FGFR1 también se ha relacionado con el 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 de carácter ácido y/o básico, así como por 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 FGFs 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 alteraciones funcionales complejas, 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 una osificación prematura de la sutura craneal, la mayoría de los casos están asociados 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 un número de mutaciones recurrentes de *FGFR2* explica 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 severas en el desarrollo del esqueleto humano, incluyendo Apert, Crouzon, Jackson-Weiss, Beare-Stevenson cutis gyrate y los síndromes de Pfeiffer están asociados 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 provocados 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 corte y empalme mutantes del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, FGFR2c y FGFR2b, han adquirido la capacidad de unirse a y ser activado por ligandos atípicos de FGF. Esta pérdida de especificidad de ligando conduce a una señalización aberrante y sugiere que los fenotipos severos de estos síndromes de enfermedad son el resultado de la activación dependiente de ligando ectópico del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos.

Aberraciones genéticas de la tirosina quinasa del receptor de FGFR3, tales como las translocaciones cromosómicas o las mutaciones puntuales, dan como resultado receptores de FGFR3 expresados ectópicamente o desregulados, constitutivamente activos. Dichas anomalías están ligadas a un subconjunto de múltiples mielomas y en el carcinoma de vejiga, hepatocelular, de células escamosas orales y carcinomas cervicales. Por consiguiente, los inhibidores de FGFR3 serían útiles en el tratamiento del mieloma múltiple, los carcinomas de vejiga y cervicales. El FGFR3 también se sobre-expresa en el cáncer de vejiga, en particular el cáncer de vejiga invasivo. El FGFR3 se activa frecuentemente por mutación en el carcinoma urotelial (UC). La expresión incrementada 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 mostraron una sobre-expresión, incluidos muchos tumores invasores musculares. FGFR3 también está relacionado con el cáncer de endometrio y tiroides.

La sobre-expresión de FGFR4 se ha vinculado a un mal pronóstico tanto en el carcinoma de próstata como en el de tiroides. Además, un polimorfismo de la línea germinal (Gly388Arg) se asocia con una incidencia incrementada de cánceres de pulmón, mama, colon, hígado (HCC) y próstata. Además, también se ha encontrado que una forma truncada de FGFR4 (incluido el dominio de quinasa) está presente en el 40% de los tumores pituitarios, pero no está presente en el tejido normal. Se ha observado una sobre-expresión de FGFR4 en tumores de hígado, colon y pulmón. El FGFR4 ha sido implicado en el cáncer colorrectal y de hígado, en que la expresión de su ligando FGF19 es frecuentemente elevada. FGFR4 también está relacionado con astrocitomas, rhabdomiomas.

Las condiciones fibróticas son un problema médico importante que resulta de una deposición anormal o excesiva de tejido fibroso. Esto ocurre en muchas enfermedades, incluida la cirrosis hepática, la glomerulonefritis, la fibrosis pulmonar, la fibrosis sistémica, la artritis reumatoide, así como el proceso natural de cicatrización de heridas. Los mecanismos de la fibrosis patológica no se comprenden por completo, 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), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante beta. (TGFβ) implicado en la proliferación de fibroblastos y el depósito de proteínas de la matriz extracelular (incluyendo colágeno y fibronectina). Esto da como resultado la alteración de la estructura y función del tejido y la posterior patología.

Un cierto número de estudios preclínicos ha demostrado la regulación positiva de los factores de crecimiento de fibroblastos en modelos preclínicos de fibrosis pulmonar. Se ha informado que TGFβ1 y PDGF están implicados en el proceso fibrogénico y el trabajo ulterior publicado sugiere que la elevación de los FGFs y el consiguiente aumento de la proliferación de fibroblastos puede ser una respuesta al TGFβ1 elevado. El beneficio terapéutico potencial de fijar como objetivo el mecanismo fibrótico en condiciones tales como la fibrosis pulmonar idiopática (IPF) es sugerido por el efecto clínico informado del agente antifibrótico pirfenidona. La fibrosis pulmonar idiopática (también conocida como alveolitis fibrosante criptogénica) es una afección progresiva que implica la cicatrización del pulmón. Gradualmente, los sacos de aire de los pulmones son reemplazados por tejido fibrótico, que se vuelve más grueso, provocando una pérdida irreversible de la capacidad del tejido de transferir oxígeno al torrente sanguíneo. Los síntomas de la afección incluyen dificultad para respirar, tos seca crónica, fatiga, dolor en el pecho y pérdida de apetito, lo cual resulta en una rápida pérdida de peso. La afección es extremadamente grave con aproximadamente un 50% de mortalidad al cabo de 5 años.

Como tal, los compuestos que inhiben el FGFR serán útiles para proporcionar un medio de prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis en tumores, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos resultarán útiles en el tratamiento o la prevención de trastornos proliferativos tales como cánceres. En particular, los tumores con mutantes activadores de receptores de tirosina quinasa (RTK) o la regulación positiva de receptores de tirosina quinasa pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores. Pacientes con mutantes activadores de cualquiera de las isoformas de los RTKs específicos comentados en esta memoria también pueden encontrar tratamiento con inhibidores de RTK particularmente beneficioso, por ejemplo, pacientes con tumores, p. ej., tumores de vejiga o cerebro, con translocación FGFR3-TACC3.

#### **Receptor del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGFR)**

Las enfermedades proliferativas crónicas van acompañadas a menudo de una angiogénesis profunda, que puede contribuir 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.

La angiogénesis se utiliza generalmente para describir el desarrollo de vasos sanguíneos nuevos o de reemplazo, o la neovascularización. Es un proceso normal necesario y fisiológico por el cual se establece la vasculatura en el embrión. La angiogénesis no se produce, en general, en la mayoría de los tejidos adultos normales, con excepción de los sitios de ovulación, menstruación y cicatrización de heridas. Sin embargo, muchas enfermedades se caracterizan por una angiogénesis persistente y no regulada. Por ejemplo, en la artritis, nuevos vasos sanguíneos capilares 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 provocar ceguera. El proceso de aterosclerosis se ha relacionado con la angiogénesis. Se ha encontrado que el crecimiento del tumor y la metástasis dependen de la angiogénesis.

El reconocimiento de la implicación de la angiogénesis en las principales enfermedades ha sido acompañado por investigaciones para identificar y desarrollar inhibidores de la angiogénesis. Estos inhibidores se clasifican generalmente en respuesta a dianas discretas en la cascada de la angiogénesis, tales 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 se produce en muchas fases y se están intentando descubrir y desarrollar compuestos que trabajen para bloquear la angiogénesis en estas diversas fases.

Hay publicaciones que enseñan que los inhibidores de la angiogénesis, que funcionan mediante diversos mecanismos, son beneficiosos en enfermedades tales como el cáncer y la metástasis, enfermedades oculares, artritis y hemangioma.

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 una angiogénesis inapropiada. El o los VEGFRs son proteínas tirosina quinasa (PTKs). Las PTKs catalizan la fosforilación de residuos específicos de tirosina en proteínas implicadas en la función celular, regulando así el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celulares.

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 implicados en la angiogénesis y participan en la transducción de señales. De particular interés es VEGFR-2, que es una PTK del receptor de transmembrana expresado principalmente en células endoteliales. La activación de VEGFR-2 por parte de VEGF es un etapa crítica 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 regularse positivamente en respuesta a determinados estímulos. Uno de estos estímulos es la hipoxia, en donde la expresión de VEGF está regulada positivamente tanto en el tumor como en los tejidos del huésped asociados. . El ligando de VEGF activa VEGFR-2 uniéndolo con su sitio de unión extracelular de VEGF. Esto conduce a la dimerización del receptor de los VEGFRs y a la autofosforilación de residuos tirosina en el dominio de la quinasa intracelular de VEGFR-2. El dominio de quinasa opera para transferir un fosfato del ATP a los residuos tirosina, proporcionando así sitios de unión para la señalización de proteínas aguas abajo del VEGFR-2 que conducen finalmente al inicio de la angiogénesis.

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

La angiogénesis es un proceso fisiológico de formación de nuevos vasos sanguíneos mediado por diversas citoquinas llamadas factores angiogénicos. Aunque su potencial papel fisiopatológico en tumores sólidos se ha estudiado ampliamente durante más de 3 décadas, la mejora de la angiogénesis en la leucemia linfocítica crónica (CLL) y otros trastornos hematológicos malignos han sido reconocidos más recientemente. Se ha documentado un nivel incrementado de angiogénesis mediante 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 por completo, los datos experimentales sugieren que varios factores angiogénicos juegan un papel en la progresión de la enfermedad. También se demostró que los marcadores

biológicos de angiogénesis tienen relevancia de pronóstico en la CLL. Esto indica que los inhibidores de VEGFR también pueden ser beneficiosos para pacientes con leucemia tal como CLL.

Con el fin de que una masa tumoral supere un tamaño crítico, debe desarrollar una vasculatura asociada. Se ha propuesto que fijar como objetivo una vasculatura tumoral limitaría la expansión del tumor y podría ser una terapia útil contra el cáncer. Observaciones del crecimiento del tumor han indicado que pequeñas masas de tumor 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, se ha identificado una diversidad de factores proangiogénicos y antiangiogénicos que han conducido al concepto del "interruptor angiogénico", un proceso en el cual la interrupción de la relación normal de estímulos e inhibidores angiogénicos en una masa tumoral permite la vascularización autónoma. El interruptor angiogénico parece estar gobernado por las mismas alteraciones genéticas que impulsan 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. Los más importantes son el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) y la angiogenina. Proteínas tales como la tromboespondina (Tsp-1), la angiostatina y la endostatina funcionan como reguladores negativos de la angiogénesis.

La inhibición de VEGFR2, pero no de VEGFR1 interrumpe notablemente el interruptor angiogénico, la angiogénesis persistente y el crecimiento inicial del tumor en un modelo de ratón. En los tumores de fase tardía surgió una resistencia fenotípica al bloqueo de VEGFR2, ya que los tumores volvieron 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 pro-angiogénicos, incluidos miembros de la familia FGF. Estas otras señales pro-angiogénicas están implicadas funcionalmente en la revascularización y el rebrote de tumores en la fase de evasión, ya que el bloqueo de FGF deteriora la progresión frente a la inhibición de VEGF.

Existe evidencia de normalización de los vasos sanguíneos de glioblastoma en pacientes tratados con un inhibidor de la tirosina quinasa del receptor pan-VEGF, AZD2171, en un estudio de fase 2. La determinación por MRI de la normalización de los vasos en combinación con biomarcadores circulantes proporciona un medio eficaz para evaluar la respuesta a los agentes antiangiogénicos.

#### **PDGFR**

Un tumor maligno es el producto de la proliferación celular no controlada. El crecimiento celular está controlado por un delicado equilibrio entre los factores que fomentan el crecimiento y los que lo inhiben. En el tejido normal, la producción y la actividad de estos factores dan como resultado células diferenciadas que crecen de una manera controlada y regulada que mantiene la integridad y el funcionamiento normales del órgano. La célula maligna ha evadido este control; el equilibrio natural se ve alterado (a través de una diversidad de mecanismos) y se produce un crecimiento celular aberrante no regulado. 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 de péptidos que envían señales a través de los receptores de tirosina quinasa de la superficie celular (PDGFR) y estimulan diversas funciones celulares que incluyen crecimiento, proliferación y diferenciación.

#### **Ventajas de un inhibidor selectivo**

El desarrollo de inhibidores de la FGFR quinasa con un perfil de selectividad diferenciado proporciona una nueva oportunidad para usar estos agentes fijados como objetivo en sub-grupos de pacientes cuya enfermedad es impulsada por la desregulación de FGFR. Compuestos que exhiben una acción inhibitoria reducida sobre quinasas adicionales, particularmente VEGFR2 y PDGFR-beta, ofrecen la oportunidad de tener un perfil de efectos secundarios o toxicidad diferenciados y, como tales, permiten un tratamiento más eficaz de estas indicaciones. Inhibidores de VEGFR2 y PDGFR-beta están asociados con toxicidades tales como hipertensión o edema, respectivamente. En el caso de los inhibidores de VEGFR2, este efecto hipertensivo a menudo limita la dosis, puede estar contraindicado en determinadas poblaciones de pacientes y requiere un tratamiento clínico.

#### **Actividad Biológica y Usos Terapéuticos**

Los compuestos de la invención, y sub-grupos 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 plaquetas (PDGFR), y que será útil para prevenir o tratar estados de la enfermedad o afecciones descritos en esta memoria. Además, los compuestos de la invención, y sub-grupos de los mismos, serán útiles para prevenir o tratar enfermedades o afecciones mediadas por las quinasas. Referencias a la prevención, la profilaxis o el tratamiento de un estado de la enfermedad o afección, tal como el cáncer, incluyen, dentro de su alcance, el alivio o la reducción de la incidencia de cáncer.

Tal como se utiliza en esta memoria, 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 efectúan un aumento o una disminución en la actividad de 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 a cualquier nivel fisiológico, incluyendo, por ejemplo, al nivel de expresión génica (incluyendo, por ejemplo, transcripción, traducción y/o modificación postraducciona), a nivel de expresión de genes que codifican elementos reguladores que actúan directa o indirectamente sobre los niveles de actividad de la quinasa. Por lo tanto, la modulación puede implicar una expresión elevada/suprimida o una expresión excesiva o insuficiente de una quinasa, incluida la amplificación de genes (es decir, múltiples copias de genes) y/o una expresión incrementada o disminuida por un efecto transcripcional, así como hiper- (o hipo-) actividad y (des)activación de la o las proteínas quinasa (incluida (des)activación) por mutación(es). Los términos "modulado", "modulante" y "modular" deben interpretarse en consecuencia.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "mediado", tal como se utiliza, p. ej., en unión con una quinasa tal como se describe en esta memoria (y se aplica, por ejemplo, a diversos procesos fisiológicos, enfermedades, estados, afecciones, terapias, tratamientos o intervenciones) pretende operar de manera limitativa, de modo que los diversos procesos, enfermedades, estados, afecciones, tratamientos e intervenciones a los que se aplica el término son aquellos en los que la quinasa juega un papel biológico. En los casos en que el término se aplica a una enfermedad, estado o afección, 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 afección (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, p. ej., la sobre-expresión de la quinasa) no necesariamente debe ser la causa proximal de la enfermedad, estado o afección: más bien, se contempla que las enfermedades, estados o afecciones mediados por la quinasa incluyan aquellos que tienen etiologías multifactoriales y progresiones complejas en las que la quinasa en cuestión está solo parcialmente implicada. En los casos en los 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 de la enfermedad o afección mediado 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 sub-grupos de los mismos son inhibidores de los FGFRs. Por ejemplo, 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 sub-grupos de los mismos son inhibidores de FGFR4.

Compuestos preferidos son compuestos que inhiben uno o más FGFR seleccionados de FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4. Compuestos preferidos de la invención son aquellos que tienen valores  $CI_{50}$  de menos de 0,1  $\mu$ M.

Compuestos de la invención también tienen actividad contra VEGFR.

Además, muchos de los compuestos de la invención exhiben selectividad para el FGFR 1, 2 y/o 3 y/o 4 en comparación con VEGFR (en particular VEGFR2) y/o PDGFR y compuestos de este tipo 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  $CI_{50}$  contra FGFR1, 2 y/o 3 y/o 4 que están entre una décima y una centésima parte de la  $CI_{50}$  contra VEGFR (en particular VEGFR2) y/o PDGFR B. En compuestos preferidos particulares 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 o inhibición de FGFR, en particular FGFR1, FGFR2, FGFR3 y/o FGFR4 que VEGFR2. Esto se puede determinar utilizando los métodos descritos en esta memoria.

Como consecuencia de su actividad en la modulación o inhibición de FGFR y/o VEGFR quinasa, los compuestos serán útiles para proporcionar medios para prevenir el crecimiento o inducir la apoptosis de neoplasias, particularmente inhibiendo la angiogénesis. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos resultarán útiles en el tratamiento o la prevención de trastornos proliferativos tales como 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 regulación positiva de VEGFR y pacientes con niveles elevados de lactato deshidrogenasa sérica pueden ser particularmente sensibles a los compuestos de la invención. Pacientes con mutantes activadores de cualquiera de las isoformas de las RTKs específicas comentadas en esta memoria también pueden encontrar particularmente beneficioso el tratamiento con los compuestos de la invención. Por ejemplo, la sobre-expresión de VEGFR en células de leucemia aguda, en que el progenitor clonal puede expresar VEGFR. También, tumores particulares con mutantes activadores o regulación positiva o sobre-expresión 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, tal como se comenta en esta memoria con tumores particulares de este tipo también pueden encontrar tratamiento con los compuestos de la invención particularmente beneficioso. Puede preferirse que el tratamiento esté relacionado con o dirigido a una

forma mutada de una de las tirosina quinasas receptoras, tal como se comenta en esta memoria. El diagnóstico de tumores con mutaciones de este tipo podría realizarse utilizando técnicas conocidas por una persona experta en la técnica y como se describe en esta memoria, tales 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 (p. ej., carcinomas colorrectales, tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, urotelio, 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), de esófago, de cabeza y cuello, de la vesícula biliar, de ovario, de páncreas (p. ej., carcinoma pancreático exocrino), de estómago, cáncer gastrointestinal (también conocido como gástrico) (p. ej., tumores del estroma gastrointestinal), de cuello uterino, del endometrio, de tiroides, de próstata o de piel (por ejemplo, carcinoma de células escamosas o dermatofibrosarcoma protuberans); cáncer de la hipófisis, un tumor hematopoyético de linaje linfocítico, por ejemplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (p. ej., 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 mielóide, 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 tiroides; cáncer hepatocelular, un tumor de origen mesenquimatoso (p. ej., 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 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 uterino, cáncer gástrico, cáncer hepatocelular, cáncer de cuello uterino, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer del endometrio, cáncer urotelial, cáncer de colon, rhabdomyosarcoma, cáncer de la glándula pituitaria.

Ejemplos de cánceres que pueden tratarse (o inhibirse) incluyen, pero no se limitan a 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 del pulmón, adenocarcinoma pulmonar, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, cáncer del endometrio, cáncer de cuello uterino, sarcoma de tejidos blandos, 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.

Determinados cánceres son resistentes al tratamiento con fármacos particulares. Esto puede deberse al tipo de tumor o puede surgir debido al tratamiento con el compuesto. A este respecto, las referencias al mieloma múltiple incluyen mieloma múltiple sensible a bortezomib o mieloma múltiple refractario. Del mismo modo, las referencias a la leucemia mielógena crónica incluyen leucemia mielógena crónica sensible a imitánib y leucemia mielógena crónica refractaria. La leucemia mielógena crónica también se conoce como leucemia mielóide crónica, leucemia granulocítica crónica o CML. Del mismo modo, la leucemia mielógena aguda, también se denomina leucemia mieloblástica aguda, leucemia granulocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda o AML.

Los compuestos de la invención también se pueden utilizar en el tratamiento de enfermedades hematopoyéticas de proliferación celular anormal, ya sean premalignas o estables, tales como enfermedades mieloproliferativas. Las enfermedades mieloproliferativas ("MPD"s) son un grupo de enfermedades de la médula ósea en las que se produce el exceso de células. Están relacionadas y pueden evolucionar hacia el síndrome mielodisplásico. 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 las derivadas de células asesinas naturales.

Además, los compuestos de la invención pueden utilizarse en el tratamiento del cáncer gastrointestinal (también conocido como gástrico), p. ej., tumores del estroma gastrointestinales. El cáncer gastrointestinal se refiere a afecciones malignas del tracto gastrointestinal, que incluyen el esófago, el estómago, el hígado, el sistema biliar, el páncreas, los intestinos y el ano.

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

Subconjuntos particulares de cánceres incluyen carcinomas de mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cervical, próstata y tiroides, cáncer de pulmón, mama y colon.

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

Un subconjunto adicional de cánceres incluye el cáncer hepatocelular que alberga la amplificación o sobre-expresión de FGF19.

- Un subconjunto de cáncer incluye el colangiocarcinoma, en particular el colangiocarcinoma con alteraciones genómicas del FGFR (fusiones y/o mutaciones).
- 5 Un subconjunto de cáncer incluye NSCLC avanzado o refractario, cáncer de mama, glioblastoma multiforme, cáncer urotelial, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer gástrico y colangiocarcinoma, en particular NSCLC avanzado o refractario, cáncer de mama, glioblastoma multiforme, cáncer urotelial, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer gástrico y colangiocarcinoma con alteraciones genómicas de FGFR (fusiones y/o mutaciones).
- 10 Un subconjunto de cáncer incluye cáncer urotelial metastásico o no resecable quirúrgicamente, en particular cáncer urotelial metastásico o no resecable quirúrgicamente con alteraciones genómicas del FGFR (fusiones y/o mutaciones).
- 15 Un subconjunto de cáncer incluye cáncer con alteraciones genómicas de FGFR (fusiones y/o mutaciones).
- El compuesto de la invención, que tiene actividad de FGFR tal como actividad inhibitoria de FGFR1, puede ser particularmente útil en el tratamiento o la prevención de cáncer de mama, en particular Carcinomas Lobulares Clásicos (CLC).
- 20 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.
- 25 En particular, los compuestos de la invención como inhibidores de FGFR son útiles en el tratamiento del mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos, cáncer del endometrio, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer colorrectal y carcinoma oral de células escamosas.
- 30 Subconjuntos de cáncer adicionales son mieloma múltiple, cáncer del endometrio, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal y carcinomas de tiroides.
- En particular, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento del mieloma múltiple (en particular mieloma múltiple con translocación t(4;14) o sobre-expresión de FGFR3), cáncer de próstata (carcinomas de próstata refractarios a hormonas), cáncer del endometrio (en particular tumores endometriales con mutaciones activadoras en FGFR2) y cáncer de mama (en particular cáncer de mama lobular).
- 35 En particular, los compuestos son útiles en el tratamiento de carcinomas lobulares tales como CLC (Carcinoma lobular clásico).
- 40 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 cerebrales con translocación FGFR3-TACC3.
- 45 En particular, los compuestos son útiles para el tratamiento del mieloma múltiple positivo con translocación t(4;14).
- En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento de sarcoma. En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, p. ej., carcinoma de células escamosas.
- 50 Como los compuestos tienen actividad contra FGFR2, serán útiles en el tratamiento de cánceres del endometrio, ovario, gástrico, hepatocelular, uterino, de cuello uterino y colorrectal. El FGFR2 también se sobre-expresa en el cáncer de ovario epitelial, por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser específicamente útiles en el tratamiento del cáncer de ovario tal como el cáncer de ovario epitelial.
- 55 En una realización, los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer de pulmón, en particular NSCLC (cáncer de pulmón de células no pequeñas), carcinoma de células escamosas, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de próstata.
- 60 Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de tumores pretratados con inhibidor de VEGFR2 o anticuerpo de VEGFR2 (p. ej., Avastina).
- 65 En particular, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de tumores resistentes a VEGFR2. Los inhibidores y anticuerpos de VEGFR2 se utilizan en el tratamiento de carcinomas de tiroides y de células

renales, por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de carcinomas de tiroides y de células renales resistentes a VEGFR2.

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

10 Se puede determinar si un cáncer particular es uno que es sensible a la inhibición de la señalización de FGFR o VEGFR mediante un ensayo de crecimiento celular tal como se establece a continuación o mediante un método tal como se recoge en la sección titulada "Métodos de Diagnóstico".

15 Los compuestos de la invención y, en particular, aquellos compuestos que tienen actividad inhibidora de FGFR o VEGFR, pueden ser particularmente útiles en el tratamiento o la prevención de cánceres de un tipo asociado o caracterizado por la presencia de niveles elevados de FGFR o VEGFR, por ejemplo, los cánceres mencionados en este contexto en la sección introductoria 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.

20 Se ha descubierto que algunos inhibidores de FGFR pueden utilizarse en combinación con otros agentes anticancerígenos. Por ejemplo, puede ser beneficioso combinar un inhibidor que induce la apoptosis con otro agente que actúa a través de un mecanismo diferente para regular el crecimiento celular, tratando así dos de los rasgos característicos del desarrollo del cáncer. Ejemplos de combinaciones de este tipo se exponen continuación.

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

30 Un subgrupo de estados y afecciones de enfermedad en los que los compuestos de la invención pueden ser útiles consiste en enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares y cicatrización de heridas.

35 También se sabe que FGFR y VEGFR juegan un papel en la apoptosis, la angiogénesis, la proliferación, la diferenciación y la transcripción y, por lo tanto, los compuestos de la invención también podrían ser útiles en el tratamiento de las siguientes enfermedades distintas al cáncer; enfermedades inflamatorias crónicas, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis mediada por autoinmunidad, 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, infarto de miocardio asociado a lesión isquémica, apoplejía y lesión por reperfusión, arritmia, aterosclerosis, enfermedades hepáticas inducidas por toxinas o relacionadas con el alcohol, 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.

45 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 suturas craneales (craneosinostosis), síndrome de Apert (AP), Síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de Beare-Stevenson cutis gyrate y síndrome de Pfeiffer.

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

55 El compuesto de la invención, que tiene actividad inhibitoria de FGFR, tal como FGFR1, FGFR2 o FGFR3, puede ser particularmente útil en el tratamiento o la prevención en patologías en las que la fibrosis progresiva es un síntoma. Afecciones fibróticas en las que los compuestos de las invenciones pueden ser útiles en el tratamiento incluyen enfermedades que exhiben un depósito anormal o excesivo de tejido fibroso, por ejemplo, en cirrosis hepática, glomerulonefritis, fibrosis pulmonar, fibrosis sistémica, artritis reumatoide, así como el proceso natural de cicatrización de heridas. En particular, los compuestos de las invenciones también pueden ser útiles en el tratamiento de la fibrosis pulmonar, en particular en la fibrosis pulmonar idiopática.

La sobre-expresión 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 la degeneración macular relacionada con la edad, retinopatías proliferativas isquémicas, tales como retinopatía de prematuridad (ROP) y retinopatía diabética, artritis reumatoide y hemangioma.

La actividad de los compuestos de la invención como inhibidores de FGFR1-4, VEGFR y/o PDGFR A/B puede medirse utilizando los ensayos recogidos en los ejemplos que figuran más adelante y el nivel de actividad exhibido por un compuesto dado puede definirse en términos del valor  $CI_{50}$ . Los compuestos preferidos de la presente invención son compuestos que tienen un valor  $CI_{50}$  de menos de 1  $\mu$ M, más preferiblemente menos de 0,1  $\mu$ M.

La invención proporciona compuestos que tienen actividad inhibidora o moduladora de FGFR, y que pueden ser útiles para prevenir o tratar estados o afecciones de enfermedades mediadas por quinasas de FGFR.

En una realización, se proporciona un compuesto tal como se define en esta memoria para uso en terapia, para uso como un medicamento. En una realización adicional, se proporciona un compuesto tal como se define en esta memoria para uso en la profilaxis o el tratamiento, en particular en el tratamiento, de un estado o afección de enfermedad mediado por una quinasa FGFR.

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 tal como se define en esta memoria para su uso en la profilaxis o el tratamiento, en particular el tratamiento, del cáncer. En una realización, el compuesto tal como se define en esta memoria es para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer dependiente de FGFR. En una realización, el compuesto tal como se define en esta memoria es para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer mediado por quinasas FGFR.

Por consiguiente, la divulgación proporciona *inter alia*:

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

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

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) tal como se define en esta memoria.

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

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

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

Un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para uso como un modulador de un proceso celular (por ejemplo, división celular) inhibiendo la actividad de una quinasa FGFR.

Un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para su uso como modulador (p. ej., inhibidor) de FGFR.

El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un estado o condición de enfermedad mediado por una quinasa FGFR, teniendo el compuesto la fórmula (I) tal como se define en esta memoria.

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

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

El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para modular (p. ej., inhibir) la actividad de FGFR.

Uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria en la fabricación de un medicamento para modular un proceso celular (por ejemplo, división celular) inhibiendo la actividad de una quinasa FGFR.

El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad o afección caracterizada por la regulación positiva de una quinasa FGFR (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4).

El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un cáncer, siendo el cáncer uno que se caracteriza por la regulación positiva de una FGFR quinasa (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4).

El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado de una sub-población que posee una aberración genética de la FGFR3 quinasa.

5 El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente a quien se le ha diagnosticado como formar parte de una sub-población que posee una aberración genética de la quinasa FGFR3.

Un método para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad o afección caracterizada por la regulación positiva de una quinasa FGFR (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4), comprendiendo el método administrar un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria.

10 Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o afección caracterizada por la regulación positiva de una quinasa FGFR (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4), comprendiendo el método administrar un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria.

Un método para la profilaxis o el tratamiento de (o para aliviar o reducir la incidencia de) cáncer en un paciente que padece o se sospecha que padece cáncer; método que comprende (i) someter a un paciente a una prueba de diagnóstico para determinar si el paciente posee una aberración genética del gen FGFR3; y (ii) en los casos en los que el paciente posee dicha variante, administrar luego al paciente un compuesto de la fórmula (I) como se define en esta memoria que tiene actividad inhibidora de la quinasa FGFR3.

15 Un método para la profilaxis o el tratamiento de (o para aliviar o reducir la incidencia de) un estado o condición de enfermedad caracterizado por la regulación positiva de una quinasa FGFR (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4); método que comprende (i) someter a un paciente a una prueba de diagnóstico para detectar un marcador característico de la regulación positiva de una quinasa FGFR (p. ej., FGFR1 o FGFR2 o FGFR3 o FGFR4) y (ii) en los casos en los que la prueba de diagnóstico sea indicativa de una regulación positiva de una quinasa FGFR, administrar luego al paciente un compuesto de la fórmula (I) tal como se define en esta memoria que tiene actividad inhibidora de la quinasa FGFR.

20 Por consiguiente, la invención proporciona *inter alia*:  
Un compuesto de fórmula (I) tal como se define en esta memoria para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer, en particular el tratamiento del cáncer.

30 En una realización, la enfermedad mediada por las quinasas FGFR es una enfermedad relacionada con la oncología (p. ej., cáncer). En una realización, la enfermedad mediada por las quinasas FGFR es una enfermedad no relacionada con la oncología (p. ej., cualquier enfermedad descrita en esta memoria, excluyendo el cáncer). En una realización, la enfermedad mediada por las quinasas FGFR es una afección descrita en esta memoria. En una realización, la enfermedad mediada por las quinasas FGFR es una afección del esqueleto descrita en esta memoria.

35 Anomalías particulares en el desarrollo del esqueleto 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 grate, el síndrome de Pfeiffer, acondroplasia y enanismo tanatofórico (también conocido como displasia tanatofórica).

#### **Quinasas Mutadas**

40 Mutaciones de quinasas resistentes a los medicamentos pueden surgir en poblaciones de pacientes tratados con inhibidores de quinasas. Éstas ocurren, en parte, en las regiones de la proteína que se unen o interactúan con el inhibidor particular utilizado en la terapia. Mutaciones de este tipo reducen o aumentan la capacidad del inhibidor de unirse e inhibir la quinasa en cuestión. Esto puede ocurrir en cualquiera de los residuos de aminoácidos que interactúan con el inhibidor o que son importantes para soportar la unión de dicho inhibidor a la diana. Un inhibidor que se une a una quinasa diana 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.

50 Un estudio en muestras de pacientes con cáncer gástrico demostró la presencia de dos mutaciones en FGFR2, Ser167Pro en el exón IIIa y una mutación en el sitio de corte y empalme 940-2A-G en el exón IIIc. Estas mutaciones son idénticas a las mutaciones activadoras de la línea germinal que provocan síndromes de craneosinostosis y se observaron en el 13% de los tejidos de cáncer gástrico primario estudiados. Además, se observaron mutaciones activadoras en FGFR3 en el 5% de las muestras de pacientes testadas y la sobre-expresión de FGFR se ha correlacionado con un mal pronóstico en este grupo de pacientes.

55 Además, se han observado translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales en FGFR que dan lugar a estados biológicos de ganancia de función, sobre-expresados o constitutivamente activos.

60 Por lo tanto, los compuestos de la invención encontrarían una aplicación particular en relación con los cánceres que expresan una diana molecular mutada tal como FGFR. El diagnóstico de tumores con mutaciones de este tipo podría realizarse utilizando técnicas conocidas por una persona experta en la técnica y como se describe en esta memoria, tales como RTPCR y FISH.

65 Se ha sugerido que mutaciones de un residuo treonina conservado en el sitio de unión a ATP de FGFR darían como resultado resistencia a inhibidores. El aminoácido valina 561 ha sido mutado a una metionina en FGFR1 que corresponde a mutaciones previamente reseñadas encontradas en Abl (T315) y EGFR (T766) que han demostrado

conferir resistencia a inhibidores selectivos. Los datos del ensayo para FGFR1 V561M demostraron que esta mutación confiere resistencia a un inhibidor de tirosina quinasa en comparación con la del tipo salvaje.

#### **Métodos de Diagnóstico**

5 Antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I) se puede evaluar a un paciente para determinar si una enfermedad o afección de la que el paciente está o puede estar sufriendo es susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra FGFR y/o VEGFR.

10 Por ejemplo, una muestra biológica tomada de un paciente puede analizarse para determinar si una afección 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 anormal de proteínas que conduce a una regulación positiva de los niveles o actividad de FGFR y/o VEGFR o para la sensibilización de una ruta hacia la actividad normal de FGFR y/o VEGFR, o para la regulación positiva de estas vías de señalización del factor de crecimiento, tales como niveles de ligando del factor de crecimiento o actividad del ligando del factor de crecimiento o regulación positiva de una ruta bioquímica aguas abajo de FGFR, y/o activación de VEGFR.

15 Ejemplos de anomalías de este tipo que resultan en la activación o sensibilización del FGFR y/o la señal de VEGFR incluyen la pérdida o inhibición de las vías apoptóticas, la regulación positiva de los receptores o ligandos, o la presencia de variantes mutantes de los receptores o ligandos, p. ej., variantes de PTK. Tumores con mutantes de FGFR1, FGFR2 o FGFR3 o FGFR4 o regulación positiva, en particular la sobre-expresión de FGFR1, o los mutantes de ganancia de función de FGFR2 o FGFR3 pueden ser particularmente sensibles a los inhibidores de FGFR.

20 Por ejemplo, mutaciones puntuales que engendran ganancia de función en FGFR2 se han identificado en un cierto número de afecciones. En particular, se han identificado mutaciones activadoras en FGFR2 en el 10% de los tumores endometriales.

25 Además, se han identificado aberraciones genéticas del receptor de tirosina quinasa del receptor FGFR3, tales como translocaciones cromosómicas o mutaciones puntuales que resultan en receptores FGFR3, ectópicamente expresados 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 PDGF en pacientes tratados con imatinib. Además, una amplificación del gen de 8p12-p11.2 se demostró en ~ 50% de los casos de cáncer de mama lobular (CLC) y esto ha demostrado estar relacionado con una expresión incrementada de FGFR1. Estudios preliminares con ARNi dirigido contra FGFR1, o un inhibidor de moléculas pequeñas del receptor demostraron que las líneas celulares que albergan esta amplificación son particularmente sensibles a la inhibición de esta vía de señalización.

30 Alternativamente, puede analizarse una muestra biológica tomada de un paciente para detectar la pérdida de un regulador negativo o supresor de FGFR o VEGFR. En el presente contexto, el término "pérdida" abarca la delección 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 producto transcrito (p. ej., por mutación puntual) o secuestro por otro producto génico.

35 La expresión regulación positiva incluye una expresión elevada o sobre-expresión, incluyendo la amplificación de genes (es decir, múltiples copias de genes) y una expresión incrementada por un efecto transcripcional, e hiperactividad y activación, incluida la activación por mutaciones. Por lo tanto, el paciente puede ser sometido a una prueba de diagnóstico para detectar una característica del marcador de la regulación positiva de FGFR y/o VEGFR. El término diagnóstico incluye rastreo. Por marcador los autores de la invención incluyen marcadores genéticos que incluyen, por ejemplo, la medición de la composición de ADN para identificar mutaciones de FGFR y/o VEGFR. El término marcador también incluye marcadores que son característicos de la regulación positiva de FGFR y/o VEGFR, incluyendo actividad enzimática, niveles enzimáticos, estado enzimático (p. ej., fosforilado o no) y niveles de ARNm de las proteínas mencionadas anteriormente.

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

45 Los métodos de identificación y análisis de mutaciones y la regulación positiva de proteínas son conocidos por una persona experta en la técnica. Los métodos de rastreo podrían incluir, pero no se limitan a métodos estándares tales como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o la hibridación in situ como la hibridación fluorescente in situ (FISH).

50 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 VEGFR. Los tumores pueden rastrearse preferentemente para detectar la presencia de una variante de FGFR y/o VEGFR antes del tratamiento. El proceso de rastreo implicará típicamente la secuenciación directa, análisis de micromatrices de oligonucleótidos o

un anticuerpo mutante específico. Además, el diagnóstico de tumores con este tipo de mutaciones podría realizarse utilizando técnicas conocidas por un experto en la técnica y como se describe en esta memoria, tales como RT-PCR y FISH.

5 Además, formas mutantes de, por ejemplo, FGFR o VEGFR2, pueden identificarse mediante secuenciación directa de, por ejemplo, biopsias de tumores utilizando la PCR y métodos para secuenciar productos de la PCR directamente tal como se describe anteriormente en esta memoria. El experto en la materia reconocerá que todas estas técnicas bien conocidas para la detección de la sobre-expresión, activación o mutaciones de las proteínas mencionadas anteriormente podrían ser aplicables en el presente caso.

10 En el rastreo por RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm, seguido de la amplificación del ADNc por PCR. Los métodos de amplificación por PCR, la selección de cebadores y las condiciones para la amplificación son conocidos por una persona experta en la técnica. Las manipulaciones de ácido nucleico y la PCR se llevan a cabo mediante métodos estándares, 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. Reacciones y manipulaciones que implican técnicas de ácido nucleico también se describen en Sambrook et al., (2001), 3ª Ed, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativamente, se puede utilizar un kit comercialmente disponible para RT-PCR (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals), o la metodología recogida en las patentes de 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 de ARNm sería la hibridación fluorescente in-situ (FISH) (véase Angerer (1987) *Meth. Enzymol.*, 152: 649).

25 En general, la hibridación in situ comprende las siguientes etapas 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 o tejido biológico; (4) lavados posteriores a la hibridación para separar fragmentos de ácidos nucleicos no unidos en la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridado. Las sondas utilizadas en dichas aplicaciones están típicamente marcadas, por ejemplo, con radioisótopos o informadores fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo, de aproximadamente 50, 100 o 200 nucleótidos a aproximadamente 1000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con el o los ácidos nucleicos diana en condiciones rigurosas. Métodos estándares para llevar a cabo FISH se describen en Ausubel, F.M. et al., eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc y *Fluorescence In Situ Hybridization: Resumen Técnico* por John M. S. Bartlett en *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2ª ed.; ISBN: 1-59259-760-2; marzo de 2004, págs 077-088; Series: *Methods in Molecular Medicine*.

40 Los métodos para el perfil de expresión génica se describen por (DePrimo et al. (2003), *BMC Cancer*, 3:3). Brevemente, 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 hexámeros aleatorios. El ADNc de doble cadena se utiliza como molde 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 matrices de genoma humano.

45 Alternativamente, los productos proteicos expresados a partir de los ARNm pueden analizarse mediante inmunohistoquímica de muestras de tumores, inmunoensayo en fase sólida con placas de microtitulación, transferencia Western, electroforesis en gel de poliacrilamida SDS bidimensional, 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 para el sitio. La persona experta reconocerá que todas estas técnicas bien conocidas para la detección de la regulación positiva de FGFR y/o VEGFR, o detección de variantes o mutantes de FGFR y/o VEGFR, podrían ser aplicables en el presente caso.

50 Niveles anormales de proteínas tales como FGFR o VEGFR se pueden medir utilizando ensayos enzimáticos estándares, por ejemplo, los ensayos descritos en esta memoria. La activación o sobreexpresión también podría detectarse en una muestra de tejido, por ejemplo, un tejido tumoral. Al medir la actividad de la tirosina quinasa con un ensayo tal como el de Chemicon International. La tirosina quinasa de interés sería inmunoprecipitada del lisado de muestra y se mediría su actividad.

60 Métodos alternativos para la medición de la sobreexpresión o activación de FGFR o VEGFR, incluidas sus isoformas, 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). Métodos de ensayo también incluyen el uso de marcadores, por ejemplo, en el caso de VEGFR, estos incluyen CD31, CD34 y CD105.

65 Por lo tanto, todas estas técnicas también podrían utilizarse 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 orales de células escamosas y provoca la activación constitutiva de la actividad de la quinasa. También se han identificado mutaciones activadoras de FGFR3 en casos de carcinoma de vejiga. Estas mutaciones fueron de 6 tipos con diferentes grados de prevención: R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q. Además, se ha encontrado que un polimorfismo Gly388Arg en FGFR4 está asociado con una incidencia y agresividad incrementadas de cáncer de próstata, colon, pulmón, hígado (HCC) y 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 afección susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra el FGFR.

Mutaciones particulares para las que se examina a un paciente incluyen mutaciones G697C, R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q en FGFR3 y polimorfismo Gly388Arg en FGFR4. En otro aspecto, la invención incluye un compuesto de la invención para uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado de una sub-población que posee una variante del gen FGFR (por ejemplo, mutación G697C en FGFR3 y polimorfismo Gly388Arg en FGFR4).

La determinación por MRI de la normalización de los vasos (p. ej., utilizando eco de gradiente de MRI, eco de rotación y mejora del contraste para medir el volumen de sangre, el tamaño relativo de los vasos y la permeabilidad vascular) en combinación con biomarcadores circulantes (células progenitoras circulantes (CPCs), CECs, SDF1 y FGF2 ) también se puede utilizar para identificar tumores resistentes a VEGFR2 para el tratamiento con un compuesto de la invención.

#### **Composiciones y Combinaciones Farmacéuticas**

A la vista de sus útiles propiedades farmacológicas, los compuestos objeto pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para fines de administración.

En una realización, la composición farmacéutica (p. ej., formulación) comprende al menos un compuesto activo de la invención junto con uno o más soportes, adyuvantes, excipientes, diluyentes, cargas, tampones, estabilizadores, conservantes, lubricantes u otros materiales farmacéuticamente aceptables, bien conocidos por los expertos en la técnica y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención, ya que el ingrediente activo se combina en una mezcla íntima con un soporte farmacéuticamente aceptable, el cual puede adoptar una amplia diversidad 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 una forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar 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 tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o soportes sólidos, tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos.

Debido a su facilidad de administración, las tabletas y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean soportes farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el soporte comprenderá habitualmente 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 soporte 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 soportes líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el soporte 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, cuyos aditivos no provocan un efecto perjudicial significativo 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, p. ej., como un parche transdérmico, como una unción puntual, como un ungüento. 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. Forma de unidad de dosificación, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones de esta memoria se refiere a unidades físicamente discretas, adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada una de las unidades una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el soporte farmacéutico requerido. Ejemplos de formas unitarias de dosificación de este tipo son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo,

oblas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de las mismas.

5 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 dosificación unitaria como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en esta memoria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada una de las unidades una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el soporte farmacéutico requerido. Ejemplos de formas unitarias de dosificación de este tipo son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, oblas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de las mismas.

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

15 Los expertos en la técnica podrían determinar fácilmente la cantidad efectiva a partir de los resultados de ensayo presentados más adelante. 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 única, dos, tres, cuatro o más sub-dosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas sub-dosis pueden formularse como formas de dosificación unitarias, 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.

25 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 soporte farmacéuticamente aceptable, estando basados todos los porcentajes en el peso total de la composición.

30 Como otro aspecto de la presente invención, se prevé una combinación de un compuesto de la presente invención con otro agente anticancerígeno, especialmente para su uso como una medicina, más específicamente para su uso en el tratamiento del cáncer o enfermedades relacionadas.

35 Para el tratamiento de las afecciones anteriores, los compuestos de la invención pueden emplearse ventajosamente en combinación con uno o más de otros agentes medicinales, más particularmente, con otros agentes o adyuvantes anticancerígenos en la terapia contra el cáncer. Ejemplos de agentes o adyuvantes anticancerígenos (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;
- 40 compuestos de taxano, por ejemplo paclitaxel, partículas unidas a proteínas de paclitaxel (Abraxane™) o docetaxel;
- inhibidores de topoisomerasa I, tales como compuestos de camptotecina por ejemplo irinotecan, SN-38, topotecan, topotecan hcl;
- inhibidores de topoisomerasa II, tales como epipodofilotoxinas antitumorales o derivados de podofilotoxina, por ejemplo etopósido, fosfato de etopósido o tenipósido;
- 45 alcaloides de vinca anti-tumorales, por ejemplo vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales, por ejemplo 5-fluorouracilo, leucovorina, gemcitabina, gemcitabina hcl, capecitabina, cladribina, fludarabina, nelarabina;
- agentes alquilantes, tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea, por ejemplo, ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina, tiotepa, mefalan (melfalan), lomustina, altretamina, busulfan, dacarbazina, estramustina, ifosfamida opcionalmente en combinación con mesna, pipobroman, procarbazona, estreptozocina, telozolomida, uracilo;
- 50 derivados de antraciclina antitumorales, por ejemplo, daunorrubicina, doxorubicina, opcionalmente en combinación con dexrazoxano, doxil, idarubicina, mitoxantrona, epirubicina, epirubicina hcl, valrubicina;
- moléculas que fijan como objetivo el receptor de IGF-1, por ejemplo picropodofilina;
- derivados de tetracarcina, por ejemplo tetrocarcina A;
- glucocorticoides, por ejemplo prednisona;
- 55 anticuerpos, por ejemplo trastuzumab (anticuerpo HER2), rituximab (anticuerpo CD20), gemtuzumab, gemtuzumab ozogamicina, cetuximab, pertuzumab, bevacizumab, alemtuzumab, eculizumab, ibritumomab tiuxetan, nofetumomab, panitumumab, tositumumab, CNTO 328;
- antagonistas del receptor de estrógenos o moduladores selectivos del receptor de estrógenos o inhibidores de la síntesis de estrógenos, por ejemplo tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex, raloxifeno o letrozol;
- 60 inhibidores de aromatasa, 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;
- Inhibidores de ADN metil transferasa, por ejemplo azacitidina o decitabina;
- antifolatos, por ejemplo, disodio premetrexado;
- 65 antibióticos, por ejemplo, antinomina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomicina, carminomicina, daunomicina, levamisol, plicamicina, mitramicina;

- antimetabolitos, por ejemplo, clofarabina, aminopterina, citosina arabinósido 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, gossipol, HA 14-1, TW 37 o ácido decanoico;
- 5 agentes de unión a tubulina, por ejemplo, combrestatina, colchicinas o nocodazol;
- inhibidores de quinasa (p. ej., inhibidores del EGFR (receptor del factor de crecimiento epitelial), MTKI (inhibidores de la quinasa de múltiples dianas), inhibidores de mTOR, inhibidores de cmet), por ejemplo, flavoperidol, mesilato de imatinib, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, lapatinib ditosilato, sorafenib, sunitinib, sunitinib, sunitinib maleato, temsirolimus, 6-{difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)[1,2,4] triazol[4,3-b]piridazin-3-il]metil}quinolina o un sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, 6-[difluoro(6-piridin-4-il[1,2,4] triazol[4,3-b]piridazin-3-il)metil]quinolina
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
- inhibidores de farnesiltransferasa, por ejemplo tipifarnib;
- inhibidores de histona desacetilasa (HDAC), por ejemplo butirato de sodio, ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), depsipéptido (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, tricostatina A, vorinostat;
- 15 Inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma, por ejemplo PS-341, MLN .41 o bortezomib;
- Yondelis;
- Inhibidores de la telomerasa, por ejemplo telomestatina;
- Inhibidores de la metaloproteínasa de la matriz, por ejemplo, batimastat, marimastat, prinostat o metastat.
- Interleuquinas recombinantes, por ejemplo, aldesleuquina, denileuquina diftotox, interferón alfa 2a, interferón alfa 2b,
- 20 peginterferón alfa 2b
- Inhibidores de la MAPK
- Retinoides, por ejemplo, alitretinoína, bexaroteno, tretinoína.
- Trióxido de arsénico
- Asparaginasa
- 25 Esteroides, por ejemplo, propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), dexametasona
- Agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina, por ejemplo abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelin, acetato de leuprolida
- Talidomida, lenalidomida
- 30 Mercaptopurina, mitotano, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, rasburicasa
- Miméticos BH3, por ejemplo ABT-737
- Inhibidores de MEK, por ejemplo PD98059, AZD6244, CI-1040
- análogos de factores estimuladores de colonias, por ejemplo filgrastim, pegfilgrastim, sargramostim; eritropoyetina o
- análogos de la misma (p. ej., darbepoetina alfa); interleuquina 11; oprelvekina; zoledronato, ácido zoledrónico;
- 35 fentanilo; bisfosfonato; palifermina.
- un inhibidor esteroide del citocromo P450 17-alfa-hidroxilasa-17,20-liasa (CYP17), p. ej., abiraterona, acetato de abiraterona.
- 40 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 de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 45 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 sub-grupo 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 de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 50 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 cualesquiera sub-grupos 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 de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 55 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 sub-grupo 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 de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 60 Los compuestos de la presente invención también tienen aplicaciones terapéuticas en la sensibilización de las células tumorales para radioterapia y quimioterapia.
- Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden utilizarse como "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador" o pueden administrarse en combinación con otro "radiosensibilizador" y/o "quimiosensibilizador".
- 65

El término "radiosensibilizador", tal como se utiliza en esta memoria, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente efectivas para aumentar la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o para fomentar el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación ionizante.

El término "radiosensibilizador", tal como se utiliza en esta memoria, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente efectivas para aumentar la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o para fomentar el tratamiento de enfermedades que son tratables con agentes quimioterapéuticos.

En la bibliografía se han sugerido varios mecanismos para el modo de acción de los radiosensibilizadores, que incluyen: radiosensibilizadores de células hipóxicas (p. ej., compuestos de 2-nitroimidazol y compuestos de dióxido de benzotriazina) que imitan el oxígeno o se comportan alternativamente como agentes biorreductores bajo hipoxia; radiosensibilizadores de células no hipóxicas (p. ej., pirimidinas halogenadas) pueden ser análogos de bases de ADN e incorporarse preferentemente en el ADN de las células cancerosas y, de este modo, fomentar la ruptura inducida por la radiación de moléculas de ADN y/o prevenir los mecanismos normales de reparación del ADN; y diversos otros posibles mecanismos de acción han sido hipotetizados para radiosensibilizadores en el tratamiento de enfermedades.

Muchos protocolos de tratamiento del cáncer emplean actualmente radiosensibilizadores junto con la radiación de rayos X. Ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, pero no se limitan a 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), hidroxurea, cisplatino y análogos y derivados terapéuticamente efectivos de los mismos.

La terapia fotodinámica (PDT) de los cánceres emplea luz visible como activador de la 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, feorbordina-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc y análogos y derivados de los mismos terapéuticamente efectivos.

Los radiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de otros compuestos, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que fomentan la incorporación de radiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes y/o oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente efectivos para tratar el cáncer u otras enfermedades.

Los quimiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de otros compuestos, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que fomentan la incorporación de quimiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de agentes terapéuticos, nutrientes y/o oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el tumor; u otros compuestos terapéuticamente efectivos para tratar el cáncer u otras enfermedades. Antagonistas del calcio, por ejemplo verapamil, se encuentran útiles en combinación con agentes antineoplásicos para establecer la sensibilidad a la quimio en las células tumorales resistentes a los agentes quimioterapéuticos aceptados y para potenciar la eficacia de este tipo de compuestos en los tumores malignos sensibles a fármacos.

A la vista de sus útiles propiedades farmacológicas, los componentes de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir, el uno o más 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.

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 soporte 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.

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 anticancerígenos, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

El uno o más agentes medicinales y el compuesto de acuerdo con la presente invención pueden administrarse simultáneamente (p. ej., en composiciones separadas o unitarias) o secuencialmente en cualquier orden. En el último caso, los dos o más compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y manera que sea suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico. Se apreciará que el método y el orden de administración preferidos y las cantidades y regímenes de dosificación respectivos para cada uno de los

componentes de la combinación dependerán del otro agente y compuesto medicinal particular de la presente invención que se administre, de su vía de administración, del tumor particular que esté siendo tratado y del huésped particular que esté 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 dosificación utilizando métodos convencionales y a la vista de la información expuesta en esta memoria.

La persona experta en la técnica puede determinar la relación ponderal del compuesto de acuerdo con la presente invención y uno o más de 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 el o los otros agentes anticancerígenos utilizados, la afección particular que esté siendo tratada, la gravedad de la afección que esté siendo tratada, la edad, el peso, el sexo, la dieta, el tiempo de administración y el estado físico general del paciente particular, el modo de administración, así como otros medicamentos que el individuo pueda estar tomando, como es bien sabido por los expertos en la técnica. Además, es evidente que la cantidad diaria efectiva puede reducirse 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 ponderal 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 dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo 50 a 400  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para cisplatino en una dosis de aproximadamente 75  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para carboplatino en aproximadamente 300  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo 75 a 250  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para cisplatino en una dosis de aproximadamente 175 a 250  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0,1 a 400 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo 1 a 300  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para irinotecan en una dosis de aproximadamente 100 a 350  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para topotecan en aproximadamente 1 a 2  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El derivado de podofilotoxina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo 50 a 250  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para etopósido en una dosis de aproximadamente 35 a 100  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para tenipósido en aproximadamente 50 a 250  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El alcaloide de la vinca antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosis de aproximadamente 3 a 12  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para vincristina en una dosis de aproximadamente 1 a 2  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para vinorelbina en una dosis de aproximadamente 10 a 30  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2500 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo 700 a 1500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para 5-FU en una dosis de aproximadamente 200 a 500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1200  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para capecitabina en aproximadamente 1000 a 2500  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

Los agentes alquilantes tales como la mostaza nitrogenada o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo de 120 a 200  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para clorambucilo en una dosis de aproximadamente 0,1 a 0,2  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para carmustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El derivado de antraciclina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de área de superficie corporal, por ejemplo de 15 a 60  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para doxorubicina en una dosis de aproximadamente 40 a 75  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para daunorrubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para idarrubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg diarios dependiendo del agente particular y de la afección que esté siendo tratada. Tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis 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. Toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. Anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez al día. Droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. Raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día. Exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez al día.

Anticuerpos se administran ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m<sup>2</sup>) de área de superficie corporal, o como se conoce en la técnica, si es diferente. Trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m<sup>2</sup>) de área de superficie corporal, particularmente de 2 a 4 mg/m<sup>2</sup> por curso de tratamiento.

Estas dosis pueden administrarse, por ejemplo, una vez, dos veces o más por curso de tratamiento, que pueden repetirse, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.

Los compuestos de fórmula (I), las sales por adición farmacéuticamente aceptables, en particular las sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, y sus formas estereoisoméricas pueden tener valiosas propiedades de diagnóstico en el sentido de que pueden utilizarse para detectar o identificar la formación de un complejo entre un compuesto marcado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores.

Los métodos de detección o identificación pueden utilizar compuestos que están marcados con agentes de marcaje, tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de los radioisótopos incluyen <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>3</sup>H y <sup>14</sup>C. Las enzimas habitualmente se hacen detectables por 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 pueden definirse como tejido corporal o fluidos corporales. Ejemplos de fluidos corporales son líquido cefalorraquídeo, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y similares.

#### **Rutas Sintéticas Generales**

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

Compuestos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar tal como se describe en los documentos WO2011/135376, WO2013/061074 y WO2014/174307.

#### **Parte Experimental**

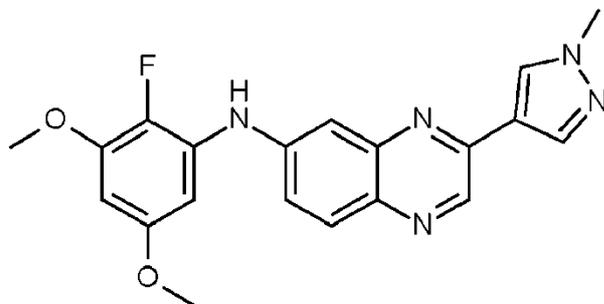
En lo sucesivo, el término 'DCM' o 'CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>' significa diclorometano, 'Me' significa metilo, 'Et' significa etilo, 'MeOH' o 'CH<sub>3</sub>OH' significa metanol, 'DMF' significa dimetilformamida, 'Et<sub>2</sub>O' significa dietil éter, 'EtOAc' significa acetato de etilo, 'ACN' o 'CH<sub>3</sub>CN' significa acetonitrilo, 'CO<sub>2</sub>' significa dióxido de carbono, 'CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>' significa acetato de amonio, 'H<sub>2</sub>O' significa agua, 'NaCl' significa cloruro de sodio, 'THF' significa tetrahidrofurano, 'MgSO<sub>4</sub>' significa sulfato de magnesio, 'NH<sub>4</sub>OH' significa hidróxido de amonio, 'K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>' significa carbonato de dipotasio, 'BBr<sub>3</sub>' significa tribromuro de boro, 'PPh<sub>3</sub>' significa trifenilfosfina, 'DMSO' significa dimetilsulfóxido, 'EDTA' significa ácido etilendiaminotetraacético, 'SFC' significa cromatografía de fluidos supercríticos, 'PF' significa punto de fusión, 'ta' significa temperatura ambiente.

#### **A. Preparación de los compuestos intermedios.**

Compuesto intermedio 1 o 7-bromo-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-quinoxalina se describe como compuesto intermedio 2 en el documento WO2011/135376 y se puede preparar de acuerdo con los protocolos descritos en el mismo para el compuesto intermedio 2.

#### **Ejemplo A1**

##### **a) Preparación del compuesto intermedio 2**

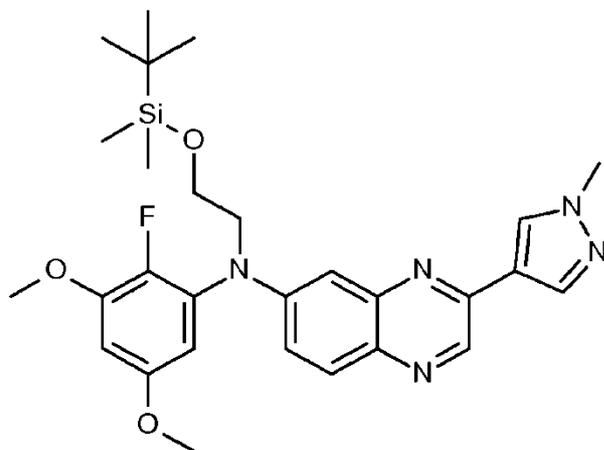


Una mezcla de compuesto intermedio 1 (5 g; 17 mmol), 2-fluoro-3,5-dimetoxianilina (3,6 g; 21 mmol), terc-butóxido de sodio (5 g; 52 mmol) y rac-bis(difenilfosfino) -1,1'-binaftilo (0,54 g; 0,87 mmol) en dioxano (100 mL) se desgasificó a temperatura ambiente bajo flujo de nitrógeno. Después de 10 minutos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

mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite®. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se cristalizó en dietil éter y el precipitado se separó por filtración y se secó en vacío para dar 4 g (61%) de compuesto intermedio 2.

**b) Preparación del compuesto intermedio 3**

5

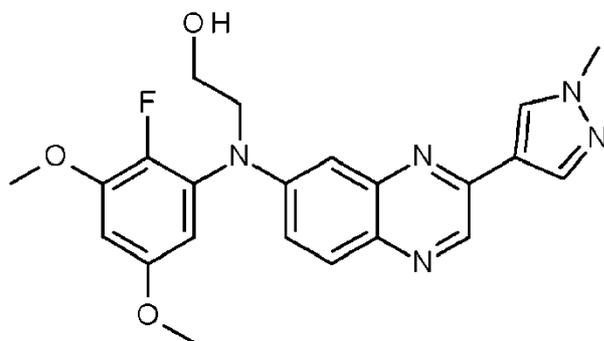


Se añadió hidruro de sodio (0,21 g; 5,35 mmol) a una solución del compuesto intermedio 2 (0,7 g; 1,85 mmol) en DMF (25 mL) a 5°C bajo flujo de nitrógeno. La mezcla se agitó a 5°C durante 1 hora. Se añadió (2-bromoetoxi)-*tert*-butildimetilsilano (0,51 mL; 2,40 mmol) gota a gota a 5°C bajo un flujo de 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 H<sub>2</sub>O, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó para dar 1,2 g (cuant.) de compuesto intermedio 3. El producto bruto se utilizó sin purificación alguna en la siguiente etapa.

10

15

**c) Preparación del compuesto intermedio 4**

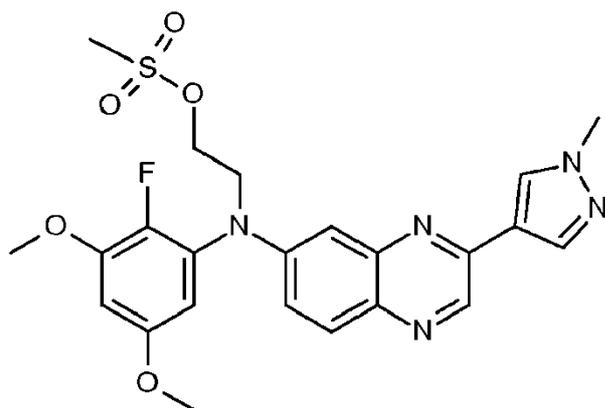


Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M en THF) (2 mL; 2 mmol) a una solución de compuesto intermedio 3 (1 g; 1,85 mmol) en THF (20 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se repartió entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo (1,2 g) se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (SiOH irregular, 15-40 μm; 80 g; eluyente: 98% de DCM, 2% de MeOH, NH<sub>4</sub>OH al 0,1%). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó. El residuo (500 mg) se cristalizó en dietiléter. El precipitado se filtró y se secó para dar 410 mg (52%) de compuesto intermedio 4. PF: 172°C (K).

20

25

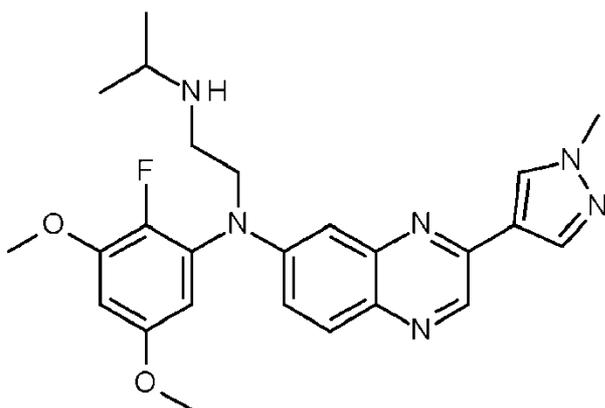
**d) Preparación del compuesto intermedio 5**



5 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,3 mL; 3,88 mmol) gota a gota a 5°C a una solución de compuesto intermedio 4 (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 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó para dar 850 mg (> 100%) de compuesto intermedio 5. El producto bruto se utilizó sin purificación en la siguiente etapa.

**e) Preparación del compuesto intermedio 6**

10



15

Una mezcla de compuesto intermedio 5 (0,648 g; 1,29 mmol) e isopropilamina (2,4 mL; 28 mmol) en CH<sub>3</sub>CN (15 mL) se calentó a 100°C durante 24 horas en un tubo sellado. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con DCM y se vertió en agua. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (SiOH irregular; 24 g; gradiente: de 3% de MeOH, 97% de DCM a 10% de MeOH, 90% de DCM). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron para dar 452 mg (75%) de compuesto intermedio 6.

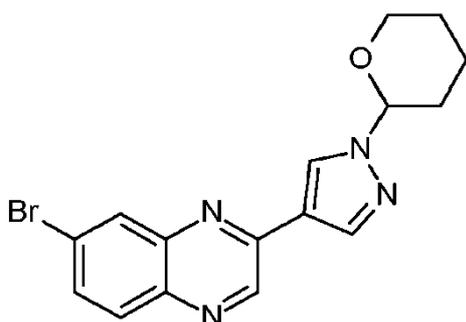
**Ejemplo A2**

20

Compuesto intermedio 7 o 7-bromo-2-[1-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-1H-pirazol-4-yl]-quinoxalina se describe en el documento WO2011/135376y se puede preparar de acuerdo con el protocolo descrito en el mismo para la preparación de compuesto intermedio 2.

**Preparación del compuesto intermedio 7**

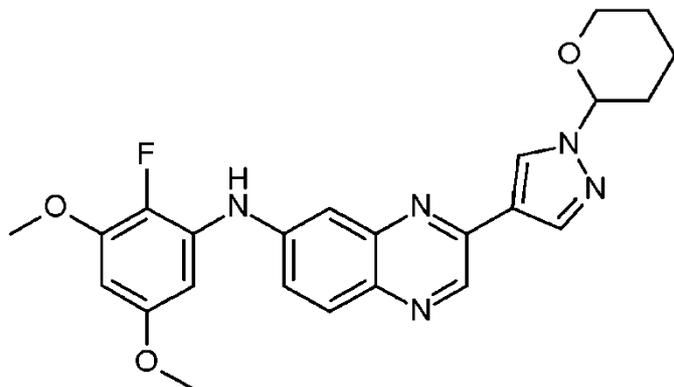
25



7-bromo-2-cloroquinoxalina (87 g, 312,8 mmol), 1-(tetrahydro-2H -piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H -pirazol (76,6 g, 312,8 mmol), carbonato de sodio acuoso 2 M (156,4 mL 318,8 mmol) en etilenglicol dimetil éter (1,5 L) se desgasificó con N<sub>2</sub> durante 10 minutos. Luego, se añadió tetrakis(trisfenilfosfina)paladio (0) (8,6 g, 7,6 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla se vertió en H<sub>2</sub>O y EtOAc. El precipitado se filtró y se secó para dar 68 g (60%) de compuesto intermedio 7.

5

**a) Preparación del compuesto intermedio 8:**



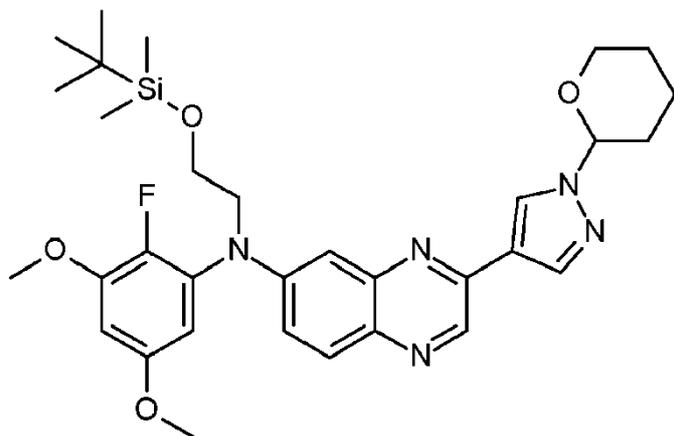
10

Una mezcla de compuesto intermedio 7 (4 g; 11 mmol), 2-fluoro-3,5-dimetoxianilina (2,5 g; 14,4 mmol), terc-butóxido de sodio (3,21 g; 33,4 mmol) y rac-bis(difenilfosfino) -1,1'-binaftilo (0,347 g; 0,557 mmol) en etilenglicol dimetiléter (200 mL) se desgasificó a temperatura ambiente bajo flujo de nitrógeno. Después de 10 minutos se añadió acetato de paladio (II) (125mg; 0,56mmol) en porciones a temperatura ambiente bajo flujo de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió sobre agua helada y EtOAc. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite®. La capa orgánica se separó, se lavó con una solución saturada de NaCl, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo (5,8 g) se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (sílice desnuda irregular 150 g, fase móvil: 99% de DCM, 1% de MeOH). Las fracciones que contenían el producto se mezclaron y se concentraron para proporcionar 2,8 g (56%) del compuesto intermedio 8.

15

20

**b) Preparación del compuesto intermedio 9:**



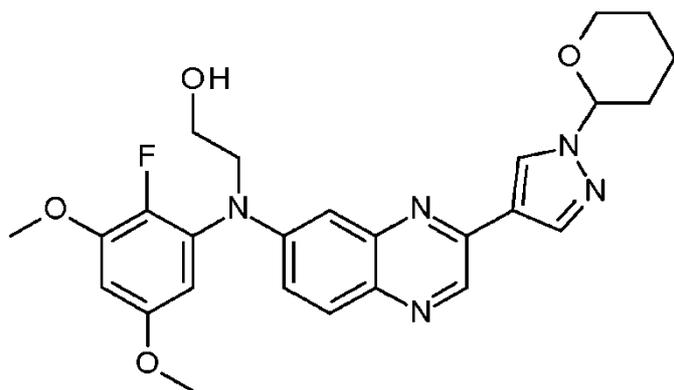
25

Se añadió en porciones hidruro de sodio (0,479 g; 11,97 mmol) a una solución de compuesto intermedio 8 (2,69 g; 5,98 mmol) en DMF (30 mL) a 5°C bajo flujo de nitrógeno. La mezcla se agitó a 5°C durante 30 minutos. (2-bromoetoxi)-*tert*-butildimetilsilano (3,21 mL; 14,96 mmol) se añadió gota a gota a 5°C bajo flujo de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 5°C, luego se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó a esta temperatura durante 4 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua con hielo y se añadió EtOAc. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (SiOH irregular; 40g; fase móvil: gradiente de 0% de MeOH, 100% de DCM a 2% de MeOH, 98% de DCM). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron a sequedad, proporcionando 3,4 g (93%) de compuesto intermedio 9.

30

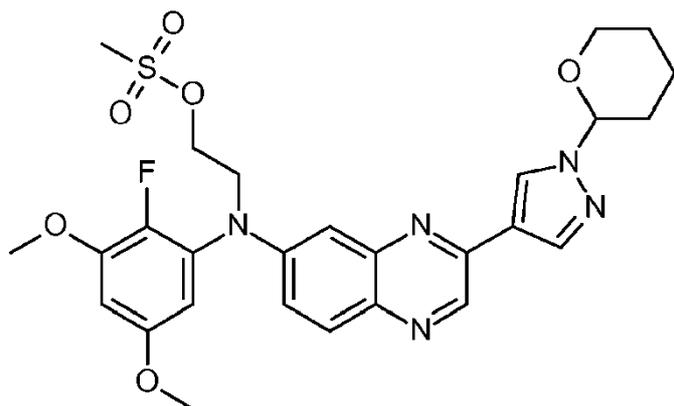
35

**c) Preparación del compuesto intermedio 10:**



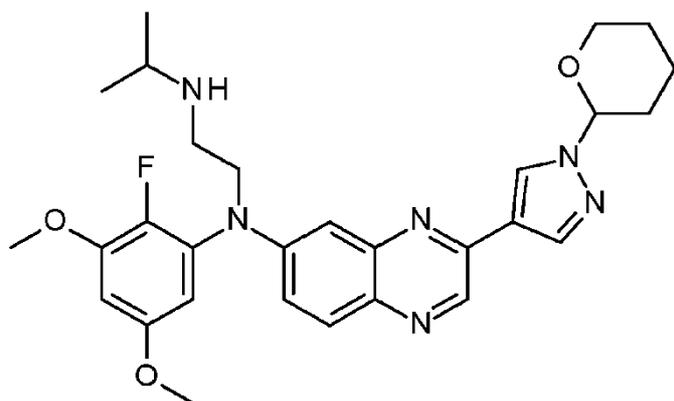
5 A una temperatura de 5 a 10°C se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M en THF) (6,71 mL; 6,71 mmol) a una solución de compuesto intermedio 9 (3,4 g; 5,59 mmol) en THF (84 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas, permitiendo que la temperatura alcanzara la temperatura ambiente. La mezcla se vertió en agua con hielo y se añadió EtOAc. La mezcla se basificó con una solución acuosa al 10% de carbonato de potasio. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se evaporó para dar 3,77 g (aceite pardo) de compuesto intermedio 10 que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional alguna.

10 **d) Preparación del compuesto intermedio 11:**



15 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (1,77 mL; 22,92 mmol) gota a gota a 5°C a una solución de compuesto intermedio 10 (3,77 g; 7,64 mmol) y trietilamina (5,32 mL; 38,19 mmol) en DCM (75 mL). La mezcla de reacción se agitó a 5°C durante 1 hora y luego, 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua y se añadió DCM. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se evaporó a sequedad (30°C) para dar 5,5 g (aceite pardo) de compuesto intermedio 11 que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional alguna.

20 **e) Preparación del compuesto intermedio 12:**

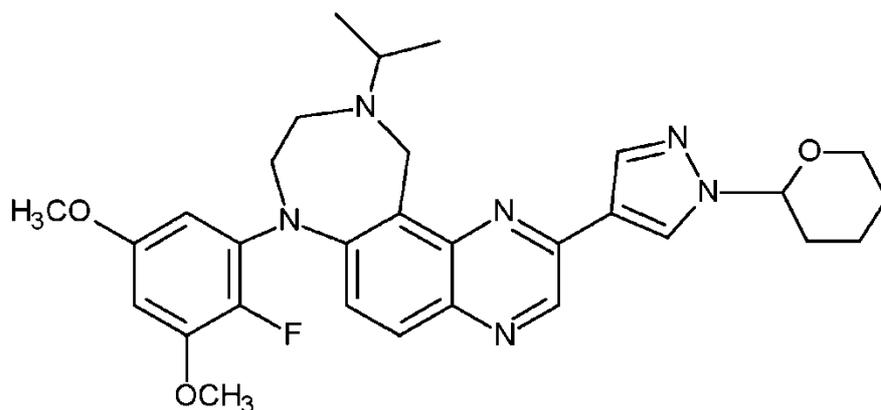


25

La reacción se realizó 10 veces, cada vez, en 550 mg de compuesto intermedio 11 y luego, las 10 reacciones se combinaron para la purificación.

5 En un tubo sellado, se calentó una mezcla de compuesto intermedio 11 (550 mg; 0,96 mmol), isopropilamina (6,6 mL; 76,97 mmol) en acetonitrilo (8 mL) a 140°C utilizando un microondas de modo único con una potencia de salida que oscila entre 0 y 400 W durante 1 hora de tiempo de espera fijo. Las 10 reacciones se combinaron y la mezcla resultante se vertió en agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó. El residuo (4,34 g) se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (SiO<sub>2</sub>, 80 g; fase móvil: 95% de DCM, 5% de MeOH, NH<sub>4</sub>OH al 0,5%). Las fracciones puras se recogieron y el disolvente se evaporó para dar 2,71 g (53%; espuma amarilla) de compuesto intermedio 12.

10 **f) Preparación del compuesto intermedio 13:**

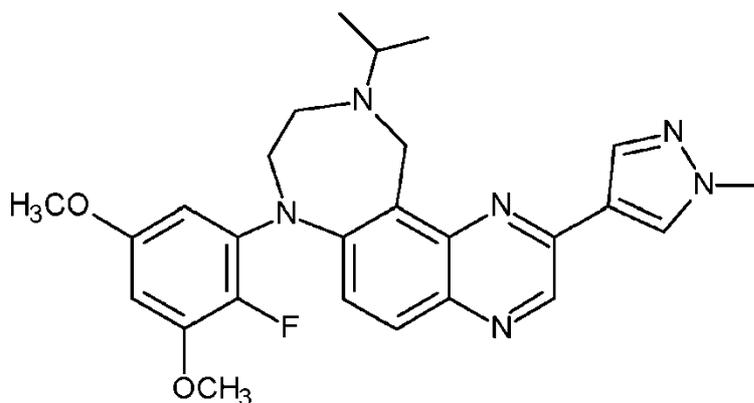


15 Una solución de compuesto intermedio 12 (2,71 g; 5,07 mmol), una solución de formaldehído (1,9 mL; 25,34 mmol, 37% en agua) en dioxano (60 mL) se calentó a 60°C durante 3 días. Se añadieron agua y EtOAc. La mezcla se extrajo varias veces con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron, luego se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se evaporó para dar 2,84 g de espuma amarilla. Este residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (irregular, 15-40 μm; 80 g; Fase móvil: NH<sub>4</sub>OH al 0,1% , 99% de DCM, 1% de MeOH) Las fracciones puras se recogieron y el disolvente se evaporó para dar 1,75 g (63%; espuma amarilla) de compuesto intermedio 13.

20 **B. Preparación de los compuestos de fórmula (I)**

25 **Ejemplo B1:**

**Preparación de compuesto 1**



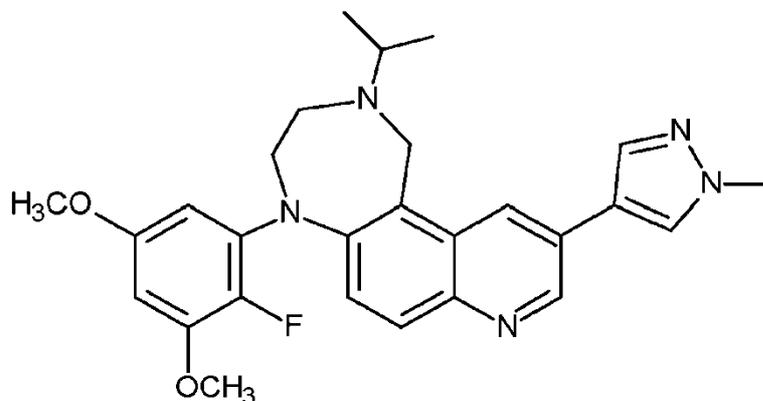
30 Una solución de compuesto intermedio 6 (382 mg; 0,82 mmol) y formaldehído (solución al 37% en agua; 308 μL; 4,11 mmol) en dioxano (10 mL) se calentó a 60°C durante 3 días. Se añadieron H<sub>2</sub>O y EtOAc. La capa orgánica se decantó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (sílice esférica desnuda de 5 μm, 150 x 30,0 mm; gradiente: de 71% de heptano, 1% de MeOH (+ NH<sub>4</sub>OH al 10%), 28% de EtOAc a 0% de heptano, 20% de MeOH (+ NH<sub>4</sub>OH al 10%), 80% EtOAc). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron a sequedad. El residuo resultante (253 mg) se cristalizó en ACN. El precipitado se filtró y se secó para dar 167 mg (42%) de compuesto 1. PF: 166°C (K).

35

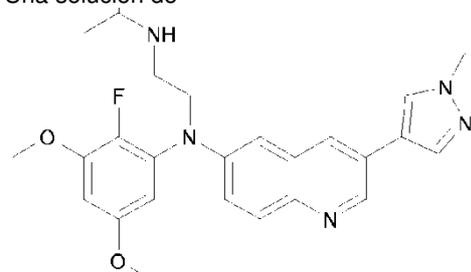
**Ejemplo B2:**

**Preparación de compuesto 2**

5



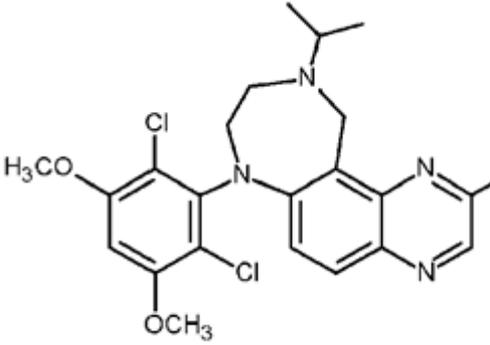
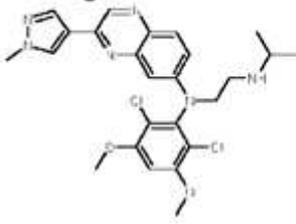
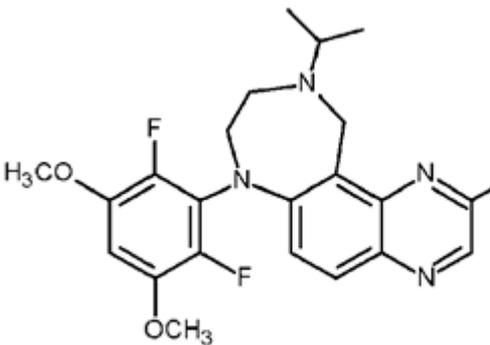
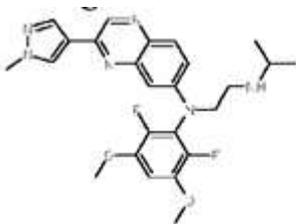
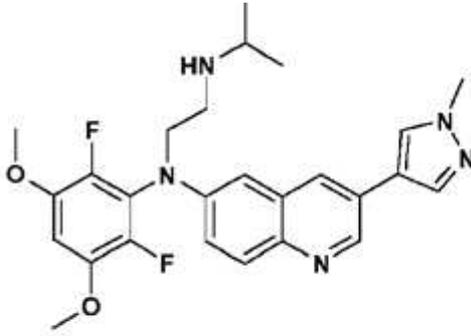
Una solución de



- 10 (compuesto 2 de documento WO2013/061074) (0,123 g; 0,27 mmol), formaldehído (solución al 37% en agua; 0,08 mL; 1 mmol) y dioxano (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 144 horas. Luego se añadieron H<sub>2</sub>O y EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo resultante (127 mg) se purificó por cromatografía en gel de sílice (15-40 μm, 40 g, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>4</sub>OH: 96/4/0,1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporaron a sequedad para dar un compuesto intermedio (41 mg) que se liofilizó con acetonitrilo/agua (20/80) para dar 41 mg (33%, polvo amarillo) de compuesto 2 .PF: 110 ° C
- 15 (engomado).

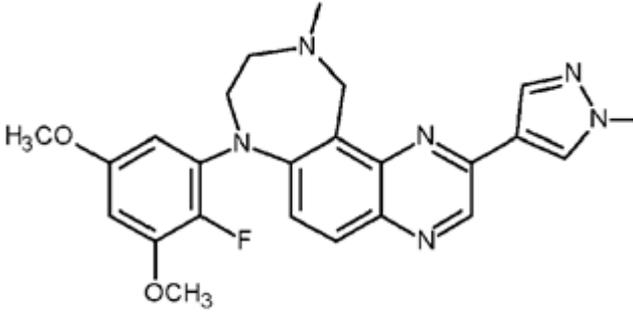
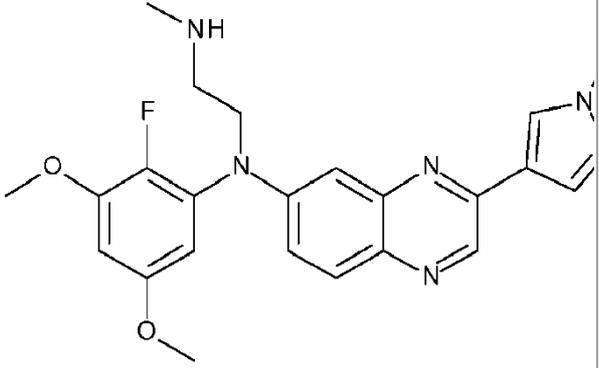
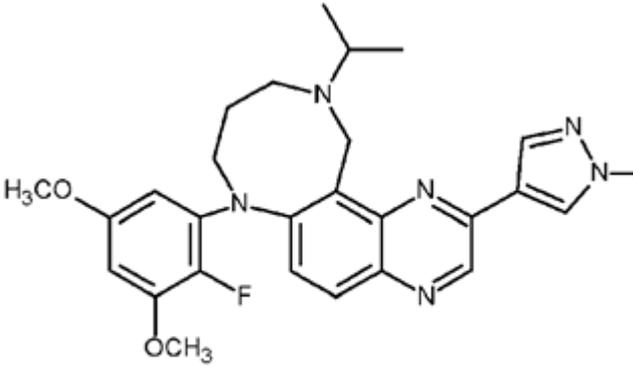
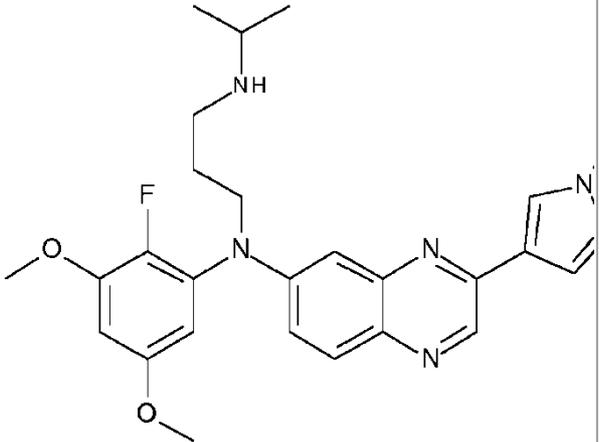
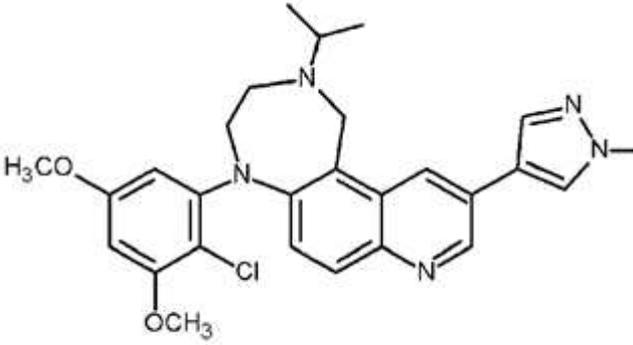
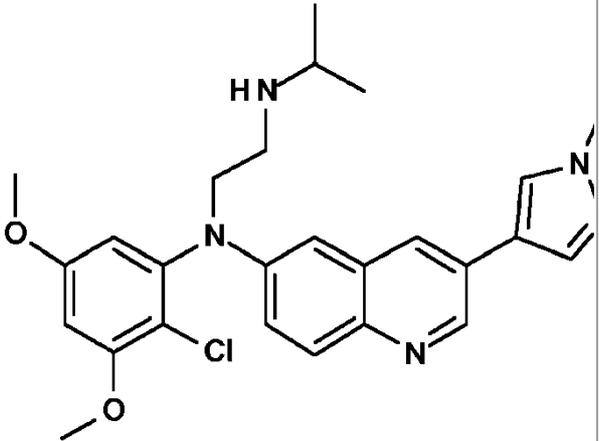
Se prepararon otros compuestos de acuerdo con los protocolos anteriores del ejemplo B1 o B2. Por ejemplo,

<p><b>Compuesto 4</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p> <p><b>(compuesto 441 de WO2011/135376)</b></p>
	<p>Compuesto intermedio de partida</p>

 <p><b>Compuesto 5</b></p>	 <p><b>(compuesto 729 de WO2011/135376).</b></p>
 <p><b>Compuesto 6</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p>  <p><b>(compuesto 687 de WO2011/135376)</b></p>
 <p><b>Compuesto 12</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p>  <p><b>(compuesto 42 de WO2013/061074)</b></p>

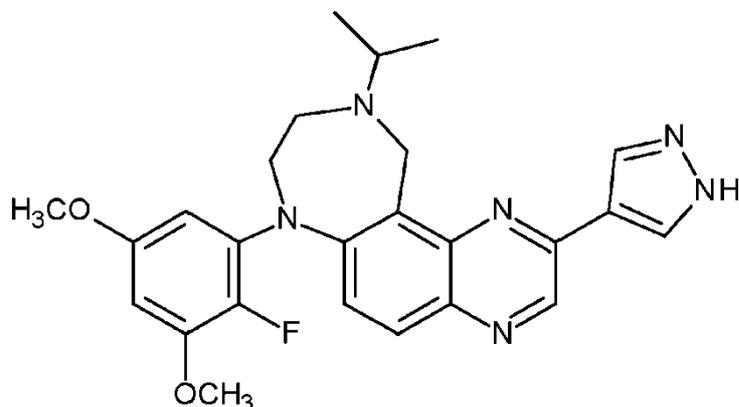
Otros compuestos se preparan de acuerdo con los protocolos anteriores del ejemplo B1 o B2.

	Compuesto intermedio de partida
--	---------------------------------

 <p><b>Compuesto 7</b></p>	 <p>que se prepara de acuerdo con el protocolo tal como se describe para los compuestos 441 o 687 del documento WO2011/135376</p>
 <p><b>Compuesto 8</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p>  <p>que se prepara de acuerdo con el protocolo tal como se describe para los compuestos 441 o 687 del documento WO2011/135376</p>
 <p><b>Compuesto 13</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p>  <p>que se prepara de acuerdo con el protocolo tal como se describe para el compuesto 42 del documento WO2013/061074</p>

**Ejemplo B3:****Preparación de compuesto 3**

5



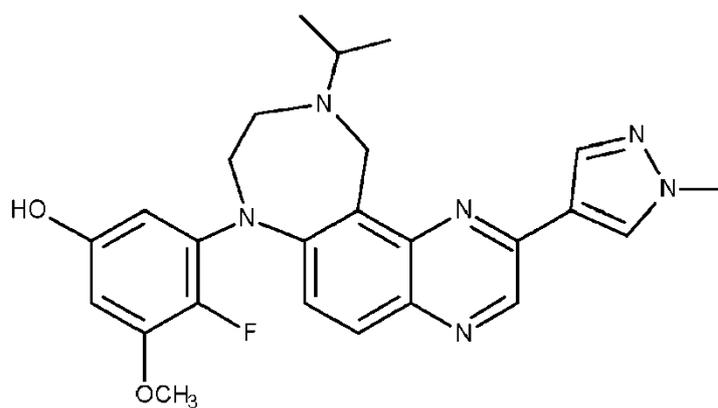
10

2,07 HCl 1,41 H<sub>2</sub>O A 5°C se añadió una solución de ácido clorhídrico en alcohol isopropílico (2 mL; 10,24 mmol) a una solución amarilla de compuesto intermedio 13 (800 mg; 1,46 mmol) en metanol (2 mL). La solución se volvió roja. La mezcla de reacción se agitó luego a 5°C durante 2 horas. Se añadió dietiléter y la mezcla se agitó durante 1 hora. El precipitado se filtró y se secó en vacío para dar 705 mg (96%, sólido rojo) de compuesto 3. PF: 210°C (Kofler).

Se prepararon otros compuestos de acuerdo con el protocolo anterior del ejemplo B3. Por ejemplo,

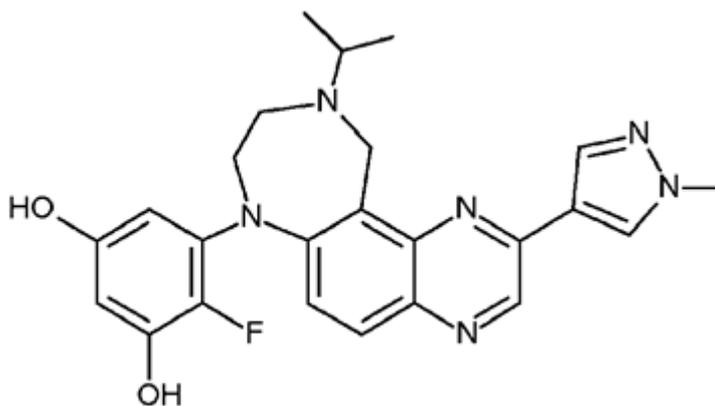
<p><b>Compuesto 16</b></p>	<p>Compuesto intermedio de partida</p> <p>que se preparó de acuerdo con el protocolo para el compuesto intermedio 13</p>
----------------------------	--

15

**Ejemplo B4:****Preparación de compuesto 11**

20

, y

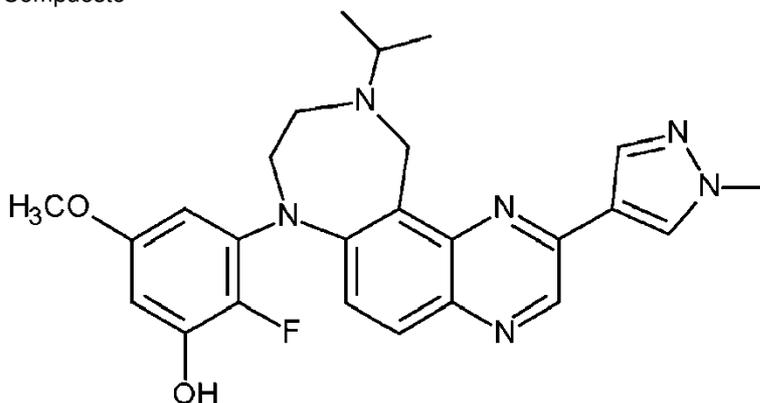


### Compuesto 9

El compuesto 11 se preparó añadiendo gota a gota una solución 1 M de tribromuro de boro en DCM (4,2 mL; 4,2 mmol) a una solución del compuesto 1 (400 mg; 0,84 mmol) en DCM (20 mL) a  $-10^{\circ}\text{C}/0^{\circ}\text{C}$ . La solución se dejó subir lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM, se vertió en agua con hielo, luego se basificó con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  sólido y la capa orgánica se decantó, se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{SiOH}$  irregular, 24 g; Fase móvil:  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 0,1%, 8% de MeOH, 92% de DCM). Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se evaporaron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (YMC-actus Triart-C18 10  $\mu\text{m}$  30\*150 mm; fase móvil: gradiente de 75% de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0,2% ac.), 25% de ACN a 35% de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0,2% ac.), 65% ACN). Se recogieron las fracciones puras, se evaporó a sequedad y se cristalizó en  $\text{Et}_2\text{O}$ , obteniéndose el compuesto 11 (15 mg; 4%)

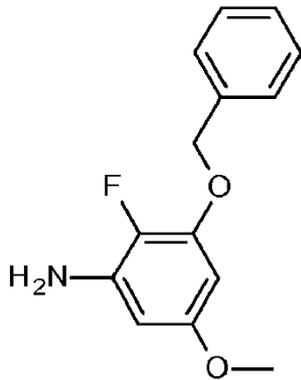
El compuesto 9 se preparó añadiendo gota a gota una solución 1 M de tribromuro de boro en DCM (4,5 mL; 4,5 mmol) a una solución del compuesto 1 (430 mg; 0,90 mmol) en DCM (30 mL) a  $-10^{\circ}\text{C}/0^{\circ}\text{C}$ . La solución se dejó subir lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM, se vertió en agua con hielo, luego se basificó con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  sólido. La capa acuosa se concentró a 15 mL y se agitó durante 3 días a temperatura ambiente y el precipitado se filtró. El residuo se recogió con ACN, se lavó con MeOH y luego con  $\text{Et}_2\text{O}$  y se secó en vacío, proporcionando el compuesto 9 (35 mg; 9%).

Compuesto



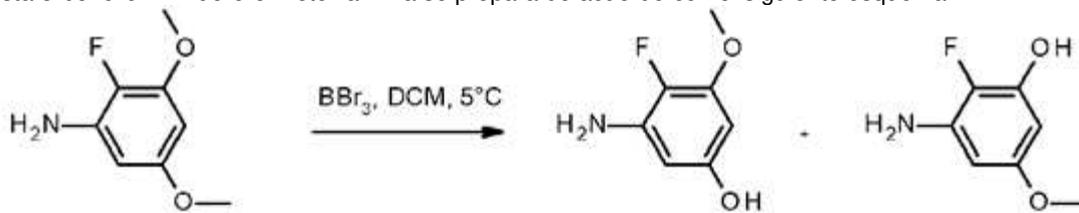
no se identificó a través del protocolo anterior.

Sin embargo, este compuesto se prepara siguiendo un proceso similar al descrito para el compuesto 1 a partir de 3-benciloxi-2-fluoro-5-metoxianilina.

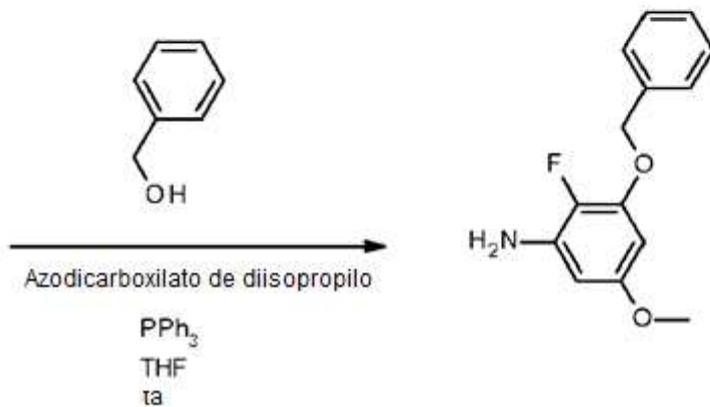


La protección de bencilo se separa por hidrogenación a 1 bar o bajo presión.

Esta 3-benzyloxi-2-fluoro-5-metoxianilina se prepara de acuerdo con el siguiente esquema:

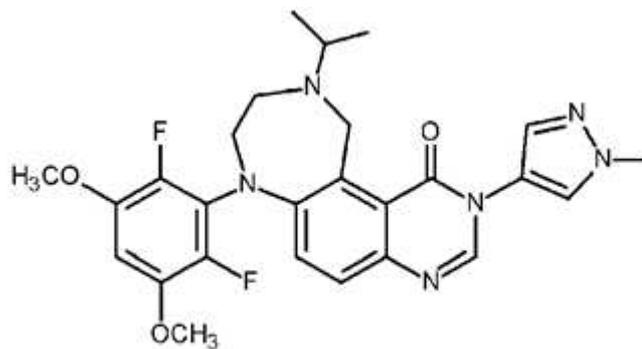


CAS: 651734-61-1



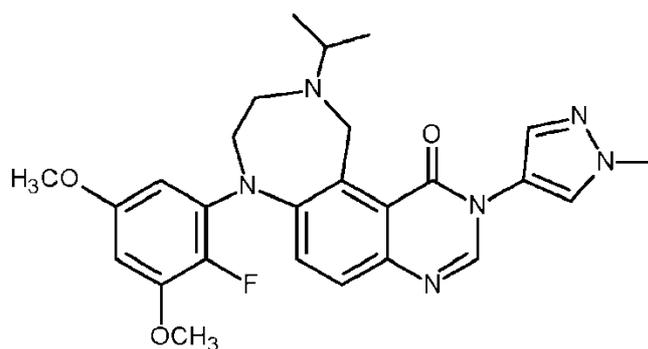
5

Ejemplo B5:



Compuesto 14

y compuesto 15



se preparan de acuerdo con el método descrito en el esquema 2 anterior.

#### Parte Analítica

#### 5 LCMS (cromatografía líquida/espectrometría de masas) (véase la Tabla que figura más adelante)

La medición por Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) se realizó utilizando una bomba de LC, una matriz de diodos (DAD) o un detector UV y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos. Si es necesario, se incluyeron detectores adicionales (véase la Tabla de métodos que figura más adelante).

El caudal procedente de la columna se llevó al Espectrómetro de Masas (MS), el cual se configuró con una fuente de iones a la presión atmosférica. Está dentro del conocimiento de la persona experta establecer los parámetros de ajuste (p. ej., intervalo de escaneo, tiempo de permanencia..) con el fin de obtener iones que permitan la identificación del peso molecular (PM) monoisotópico nominal del compuesto. La adquisición de los datos se realizó con un software apropiado. Los compuestos se describen por los tiempos de retención ( $R_t$ ) experimentales y los iones. Si no se especifica de manera diferente en la tabla de datos, el ion molecular reseñado corresponde a  $[M+H]^+$  (molécula protonada) y/o  $[M-H]^-$  (molécula desprotonada). En caso de que el compuesto no fuera directamente ionizable, se especifica el tipo de aducto ( es decir,  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$ ; etc..) Para moléculas con múltiples patrones isotópicos (Br, Cl..) el valor reseñado es el obtenido para la masa de isótopo más baja. Todos los resultados se obtuvieron con incertidumbres experimentales que se asocian comúnmente al método utilizado.

En lo que sigue "SQD" significa Detector de Cuadrupolo Simple. "TA" temperatura ambiente, "BEH" híbrido de etilsiloxano/sílice puenteado, "HSS" Sílice de Alta Resistencia, "DAD" Detector de Matriz de Diodos.

Tabla de métodos: Códigos del método LCMS (Caudal expresado en mL/min; temperatura de la columna (T) en °C; Tiempo del proceso en minutos).

	Instrumento	Columna	Fase móvil	gradiente	Flow Column T	Tiempo de proceso :
Método 1	Waters: Acquity UPLC® DAD Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 μm, 2,1 x 100 mm)	A: 95% de CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 7 mM / 5% de CH <sub>3</sub> CN, CH <sub>3</sub> CN B:	84,2% A durante 0,49 minutos, a 10,5% de A en 2,18 minutos, mantener durante 1,94 minutos, de nuevo a 84,2% de A en 0,73 minutos, mantener durante 0,73 minutos.	0.343 ----- 40	6,2
Método 2	Waters: Acquity UPLC® Clase H - DAD y QDa	BEH®- C18 (1,7 μm, 2,1 x 1000 mm)	A: 95% de CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 7 mM / 5% de CH <sub>3</sub> CN, CH <sub>3</sub> CN B:	95% de A a 5% de A en 1 min, mantener durante 1,6 min, de nuevo a 95% de A en 1,2 min, mantener durante 0,5 min	0.5 ----- 40	3,3

	Instrumento	Columna	Fase móvil	gradiente	Flow Column T	Tiempo de proceso :

### Puntos de fusión

- 5 Los puntos de fusión se obtuvieron con un banco caliente Kofler, que consiste en una placa calentada con gradiente de temperatura lineal, un puntero deslizante y una escala de temperatura en grados Celsius.

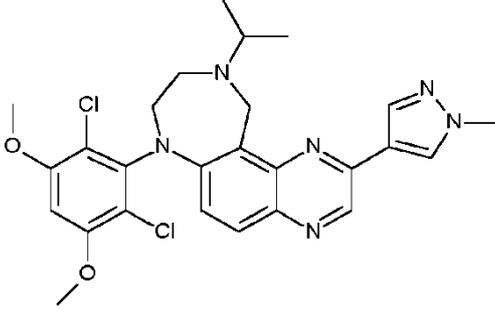
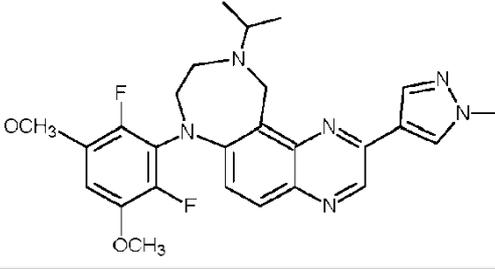
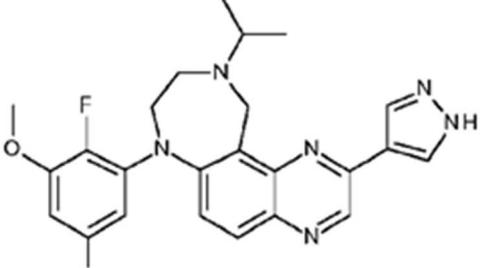
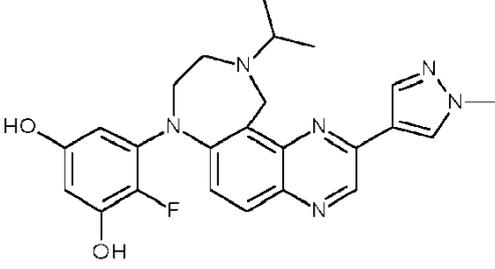
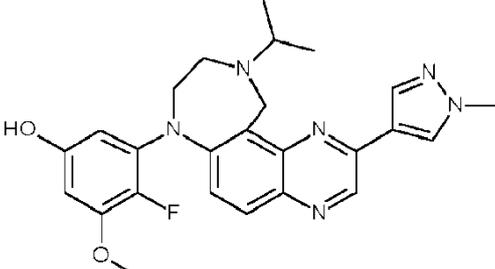
### RMN

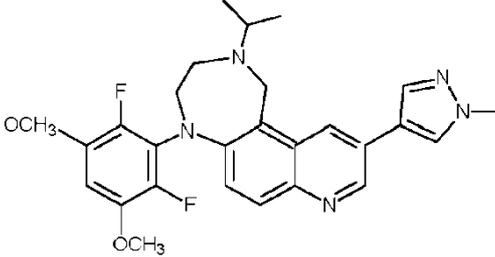
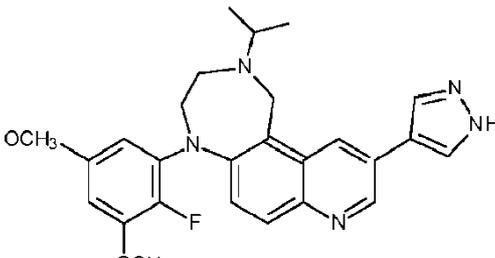
- 10 El experimento de RMN se llevó a cabo a temperatura ambiente utilizando un espectrómetro Bruker Avance 500 equipado con un cabezal de sonda de triple resonancia inversa ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  TXI) con gradientes z y operando a 500 MHz para el protón y 125 MHz para el carbono. o un espectrómetro Bruker Avance DRX 400, utilizando bloqueo de deuterio interno y equipado con cabezal de sonda de doble resonancia inversa ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , SEI) con gradientes z y operando a 400MHz para el protón y 100 MHz para el carbono.

**Tabla A1:** Co. N° significa número de compuesto; Tiempo de retención ( $R_t$ ) en minutos; PF significa punto de fusión ( $^{\circ}\text{C}$ ).

Como entiende una persona experta en la técnica, los compuestos sintetizados utilizando los protocolos indicados pueden existir como un solvato, p. ej., hidrato y/o contienen disolvente residual o impurezas menores.

Co. N°	Compuesto	PF ( $^{\circ}\text{C}$ ):	(Kofler (K))	$R_t$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	Método LCMS
1		166	K	2,71	477	Método 1
2		110 (goma)	K	2,73	476	Método 1
4		182	K	2,78	493	Método 1
5		110 (goma)	K	2,80	527	Método 1

						
6		-	-	1,15	495	Método 2
3	 en forma de una sal del ácido clorhídrico	210	K	2,51	463	Método 1
9		230	K	1,93	449	Método 1
11		35 (goma)	K	2,28	463	Método 1
12		128	K	2,77	494	Método 1

							
16		138	K	2,56	462	Método 1	

**Compuesto 1**

5  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9,10 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,68 (d,  $J=9,14$  Hz, 1H), 7,03 (d,  $J=9,14$  Hz, 1H), 6,51 (dd,  $J=2,84, 6,62$  Hz, 1H), 6,43 (dd,  $J=2,84, 5,67$  Hz, 1H), 4,46 (s a, 2H), 3,97 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,74-3,79 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 2,99 (quin,  $J=6,54$  Hz, 1H), 2,85-2,92 (m, 2H), 1,14 (d,  $J=6,62$  Hz, 6H)

**Compuesto 2**

10  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9,02 (d,  $J=2,02$  Hz, 1H), 8,52 (d,  $J=1,52$  Hz, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,67 (d,  $J=9,09$  Hz, 1H), 7,03 (d,  $J=9,09$  Hz, 1H), 6,45 (dd,  $J=2,78, 6,32$  Hz, 1H), 6,35 (dd,  $J=2,78, 5,81$  Hz, 1H), 4,16 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,66-3,78 (m, 5H), 3,10 (quin,  $J=6,44$  Hz, 1H), 2,83 (a t,  $J=4,55$  Hz, 2H), 1,12 (d,  $J=6,57$  Hz, 6H)

**Parte farmacológica**15 **Ensayos biológicos A****FGFR1 (ensayo enzimático)**

20 En un volumen de reacción final de 30  $\mu\text{L}$ , se incuba FGFR1 (h) (25 ng/ml) con HEPES 50 mM pH 7,5,  $\text{MnCl}_2$  6 mM, DTT 1 mM,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  0,1 mM, Tritón -X-100 al 0,01%, Bln-Flt3 500 nM y ATP 5  $\mu\text{M}$  en presencia de compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene con EU-anti P-Tyr 2,27 nM, EDTA 7 mM, SA-XL-665 31.25 nM y BSA al 0,02% que está presente durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía de Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se mide luego y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu\text{M}$  a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $\text{Cl}_{50}$  (M) y  $\text{pCl}_{50}$  (-log $\text{Cl}_{50}$ ).

**FGFR2 (ensayo enzimático)**

30 En un volumen de reacción final de 30  $\mu\text{L}$ , se incuba FGFR2 (h) (150 ng/ml) con HEPES 50 mM pH 7,5,  $\text{MnCl}_2$  6 mM, DTT 1 mM,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  0,1 mM, Tritón -X-100 al 0,01%, Bln-Flt3 500 nM y ATP 0,4  $\mu\text{M}$  en presencia de compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene con EU-anti P-Tyr 2,27 nM, EDTA 7 mM, SA-XL-665 31.25 nM y BSA al 0,02% que está presente durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía de Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se mide luego y los resultados se expresan en (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu\text{M}$  a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $\text{Cl}_{50}$  (M) y  $\text{pCl}_{50}$  (-log $\text{Cl}_{50}$ ).

**FGFR3 (ensayo enzimático)**

40 En un volumen de reacción final de 30  $\mu\text{L}$ , se incuba FGFR3 (h) (40 ng/ml) con HEPES 50 mM pH 7,5,  $\text{MnCl}_2$  6 mM, DTT 1 mM,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  0,1 mM, Tritón -X-100 al 0,01%, Bln-Flt3 500 nM y ATP 25  $\mu\text{M}$  en presencia de compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene con EU-anti P-Tyr 2,27 nM, EDTA 7 mM, SA-XL-665 31.25 nM y BSA al 0,02% que está presente durante 60 minutos a

temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía de Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se mide luego y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

**FGFR4 (ensayo enzimático)**

En un volumen de reacción final de 30  $\mu$ L, se incuba FGFR4 (h) (60 ng/ml) con HEPES 50 mM pH 7,5,  $MnCl_2$  6 mM, DTT 1 mM,  $Na_3VO_4$  0,1 mM, Tritón -X-100 al 0,01%, Bln-Flt3 500 nM y ATP 5  $\mu$ M en presencia de compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene con EU-anti P-Tyr 2,27 nM, EDTA 7 mM, SA-XL-665 31,25 nM y BSA al 0,02% que está presente durante 60 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía de Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se mide luego y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

**KDR (VEGFR2) (ensayo enzimático)**

En un volumen de reacción final de 30  $\mu$ L, se incuba KDR (h) (150 ng/ml) con HEPES 50 mM pH 7,5,  $MnCl_2$  6 mM, DTT 1 mM,  $Na_3VO_4$  0,1 mM, Tritón -X-100 al 0,01%, Bln-Flt3 500 nM y ATP 3  $\mu$ M en presencia de compuesto (1% de DMSO final). Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detiene con EU-anti P-Tyr 2,27 nM, EDTA 7 mM, SA-XL-665 31,25 nM y BSA al 0,02% que está presente durante 120 minutos a temperatura ambiente. La señal de Transferencia de Energía de Resonancia de Fluorescencia Resuelta en el Tiempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) se mide luego y los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa). En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

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

En una placa de 384 pocillos se pulverizan 100 nl de dilución de compuesto en DMSO antes de añadir 50  $\mu$ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y gentamicina 50  $\mu$ g/ml) que contiene 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/ F3-FGFR1. Las células se colocan en una incubadora a 37°C y 5% de  $CO_2$ . Después de 24 horas, se añaden a los pocillos 10  $\mu$ l de solución de Azul Alamar ( $K_3Fe(CN)_6$  0,5 mM  $K_4Fe(CN)_6$  0,5 mM, Resazurina 0,15 mM y Tampón Fosfato 100 mM), se incuban durante 4 horas. a 37°C y 5% de  $CO_2$  antes de que se midan las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placa de fluorescencia.

En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

Como contrapantalla, se realiza el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murina .

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

En una placa de 384 pocillos se pulverizan 100 nl de dilución de compuesto en DMSO antes de añadir 50  $\mu$ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y gentamicina 50  $\mu$ g/ml) que contiene 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/ F3-FGFR3. Las células se colocan en una incubadora a 37°C y 5% de  $CO_2$ . Después de 24 horas, se añaden a los pocillos 10  $\mu$ l de solución de Azul Alamar ( $K_3Fe(CN)_6$  0,5 mM  $K_4Fe(CN)_6$  0,5 mM, Resazurina 0,15 mM y Tampón Fosfato 100 mM), se incuban durante 4 horas. a 37°C y 5% de  $CO_2$  antes de que se midan las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placa de fluorescencia.

En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

Como contrapantalla, se realiza el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murina .

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

En una placa de 384 pocillos se pulverizan 100 nl de dilución de compuesto en DMSO antes de añadir 50  $\mu$ l de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y gentamicina 50  $\mu$ g/ml) que contiene 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/ F3-KDR. Las células se colocan en una incubadora a 37°C y 5% de  $CO_2$ . Después de 24 horas, se añaden a los pocillos 10  $\mu$ l de solución de Azul Alamar ( $K_3Fe(CN)_6$  0,5 mM  $K_4Fe(CN)_6$  0,5 mM, Resazurina 0,15 mM y Tampón Fosfato 100 mM), se incuban durante 4 horas. a 37°C y 5% de  $CO_2$  antes de que se midan las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placa de fluorescencia.

En este ensayo, se determina el efecto inhibitor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10  $\mu$ M a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de  $CI_{50}$  (M) y  $pCI_{50}$  (-log $CI_{50}$ ).

Como contrapantalla, se realiza el mismo experimento en presencia de 10 ng/ml de IL3 murina .

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

En una placa de 384 pocillos se pulverizan 100 nl de dilución de compuesto en DMSO antes de añadir 50 µl de medio de cultivo celular (RPMI-1640 libre de rojo fenol, FBS al 10%, L-glutamina 2 mM y gentamicina 50 µg/ml) que contiene 20000 células por pocillo de células transfectadas con Ba/ F3-FGFR4. Las células se colocan en una incubadora a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Después de 24 horas, se añaden a los pocillos 10 µl de solución de Azul Alamar (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0,5 mM K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0,5 mM, Resazurina 0,15 mM y Tampón Fosfato 100 mM), se incuban durante 4 horas a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> antes de que se midan las RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) en un lector de placa de fluorescencia.

En este ensayo, se determina el efecto inhibidor de diferentes concentraciones de compuestos (intervalo 10 µM a 0,1 nM) y se usa para calcular un valor de CI<sub>50</sub> (M) y pCI<sub>50</sub> (-logCI<sub>50</sub>).

#### **Ensayos biológicos B**

#### **Ensayos de Unión a Enzimas (KINOMEScan®)**

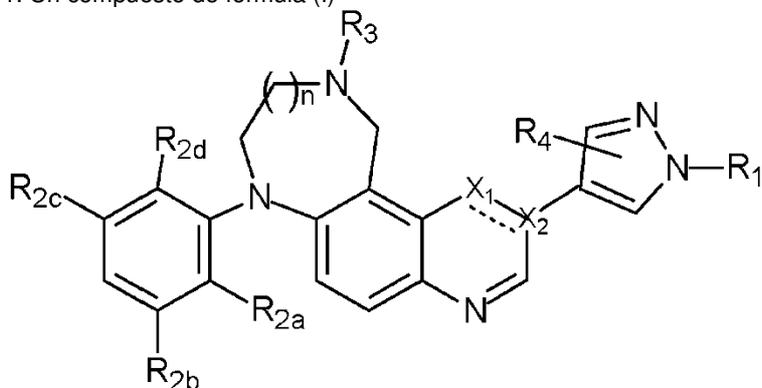
Las afinidades de unión a la enzima quinasa de compuestos descritos en esta memoria se determinaron utilizando la tecnología KINOMEScan® realizada por DiscoverX Corporation, San Diego, California, EE. UU. (Www.kinomescan.com). La Tabla A2 recoge los valores de pKd obtenidos, siendo Kd (M) el valor constante de unión del inhibidor y siendo pKd -log Kd:

**Tabla A2**

Compuesto	pKd FGFR1	pKd FGFR2	pKd FGFR3	pKd FGFR4	pKd VEGFR2
1	9,1	8,37	8,62	7,96	7,34
2	8,83	8,22	8,38	8,05	7,03
4	8,68	7,72	8,13	7,56	7,23
5	8,14	7,57	7,85	7,11	6,58
3	8,81	7,93	8,26	7,8	7,15
9	6,01	<5,52	<5,52	<5,52	<5,52
11	8,41	7,35	8,05	7,22	6,91
12	8,51	7,71	7,97	7,42	6,94
16	8,64	7,4	8,1	7,74	6,56

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

5 incluyendo cualquier forma tautomérica o estereoquímicamente isomérica de los mismos, en donde

X <sub>1</sub> es N y X <sub>2</sub> es C	(a);
X <sub>1</sub> es CH y X <sub>2</sub> es C	(b); o
X <sub>1</sub> es C(=O) y X <sub>2</sub> es N	(c);

y en donde la línea de puntos representa un enlace en el caso de (a) y (b) y en donde la línea de puntos está ausente en el caso de (c);

n representa un número entero igual a 1 o 2;

10 R<sub>1</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -C(=O)NHCH<sub>3</sub>, o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>2a</sub> representa fluoro o cloro;

R<sub>2b</sub> representa metoxi o hidroxilo;

R<sub>2c</sub> representa metoxi o hidroxilo;

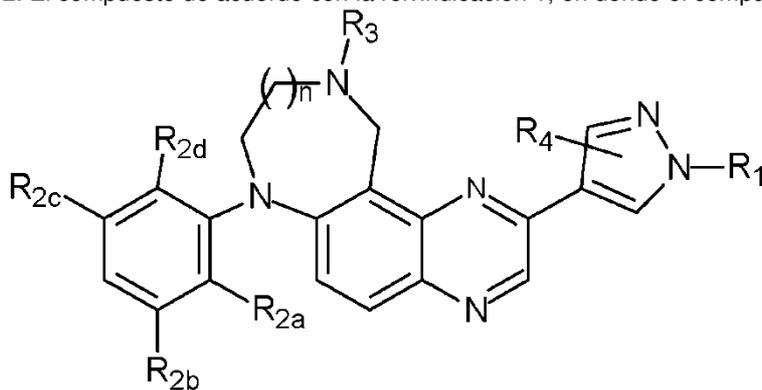
R<sub>2d</sub> representa hidrógeno, fluoro o cloro;

15 R<sub>3</sub> representa hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sub>4</sub> representa hidrógeno, metilo o etilo;

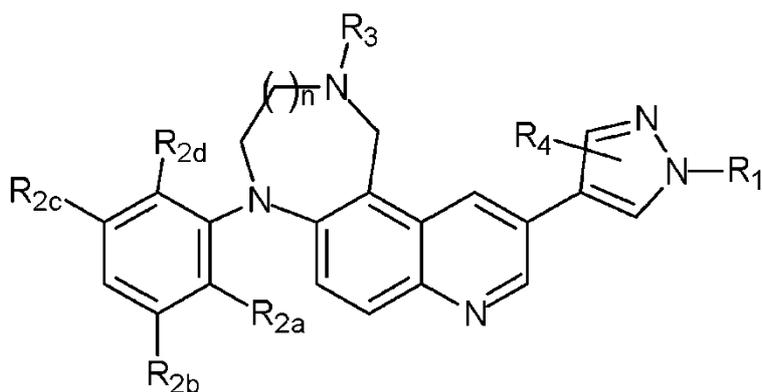
una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.

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



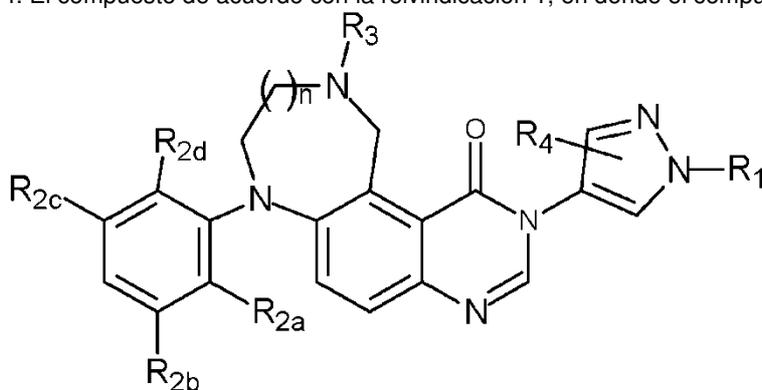
(Ia).

20 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la siguiente estructura



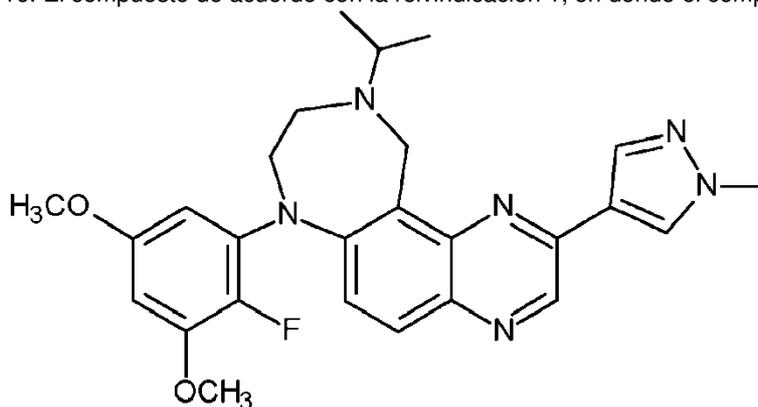
(Ib).

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la siguiente estructura



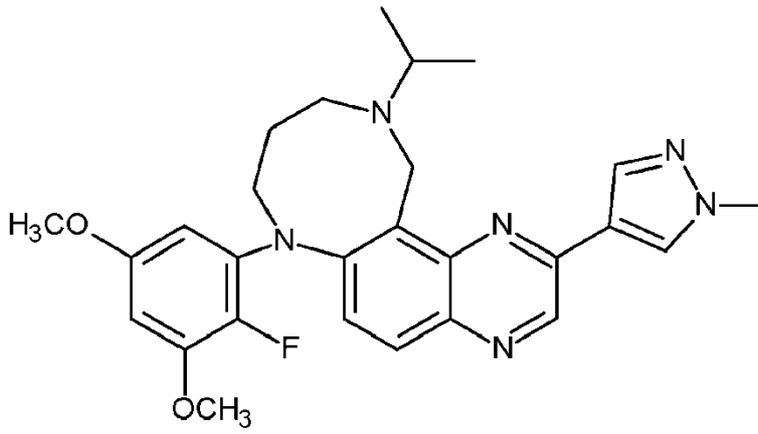
(Ic).

5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde n representa un número entero igual a 1.
6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde n representa un número entero igual a 2.
7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>1</sub> representa hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>.
8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en donde R<sub>1</sub> representa alquilo C<sub>1-4</sub>.
9. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>2a</sub> representa fluoro.
10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>2b</sub> representa metoxi.
11. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>2c</sub> representa metoxi.
12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>2d</sub> representa hidrógeno.
13. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde R<sub>2d</sub> representa fluoro o cloro.
14. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>3</sub> representa alquilo C<sub>1-6</sub>.
15. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde R<sub>4</sub> representa hidrógeno.
16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona de

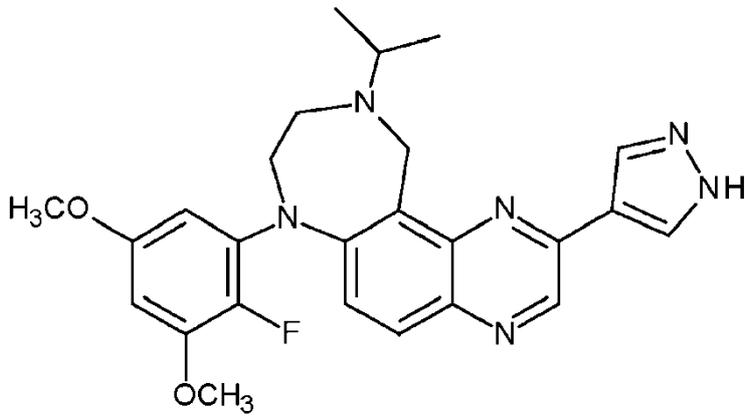


;

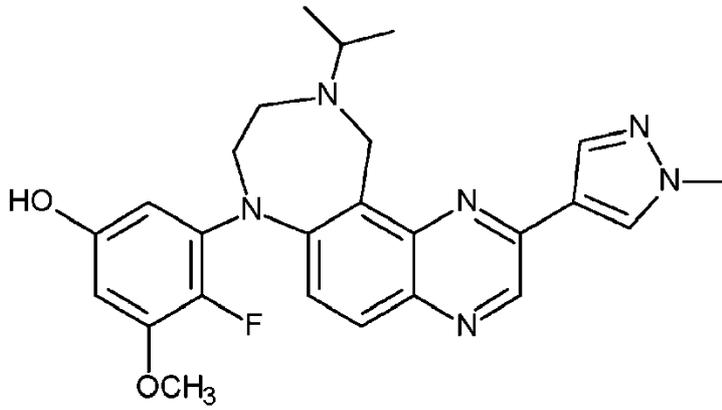




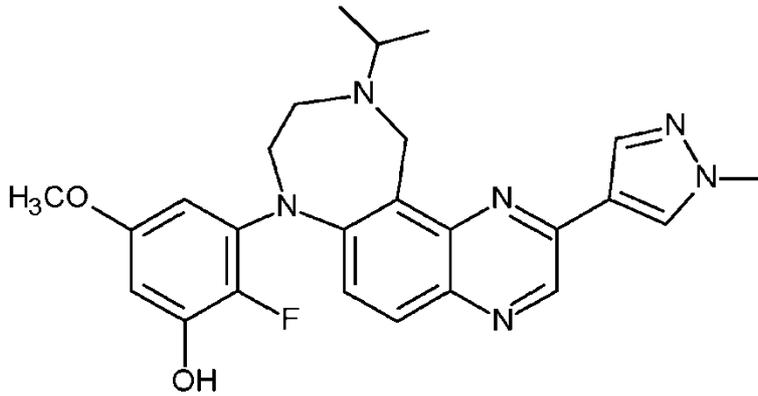
;



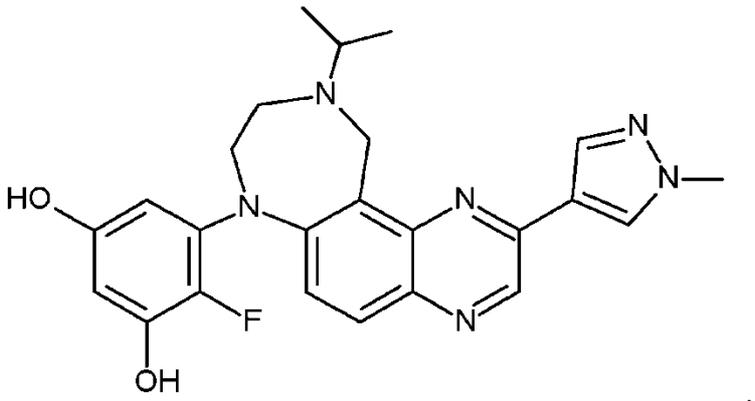
;



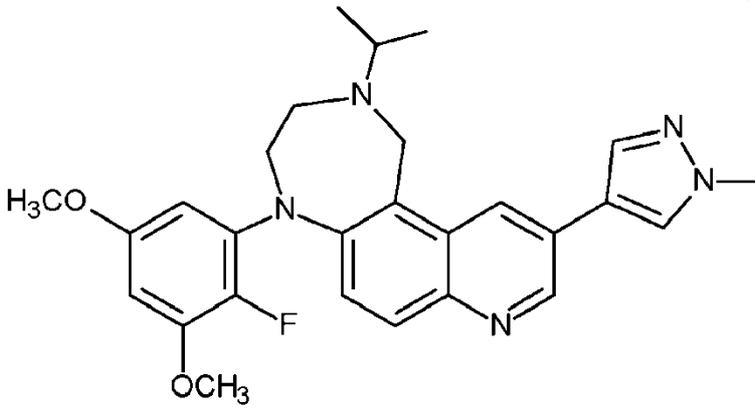
;



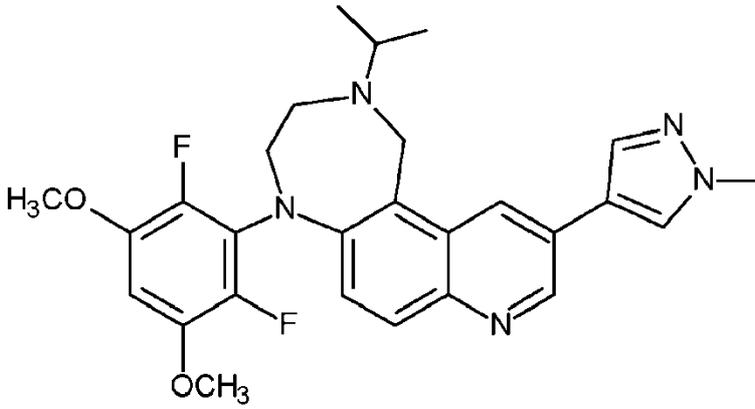
;



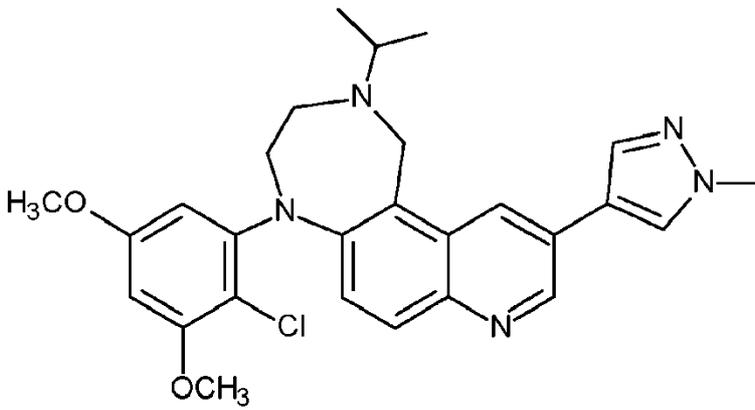
;



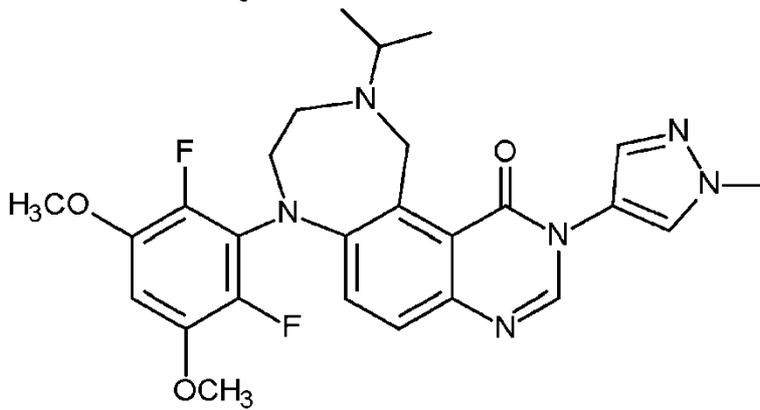
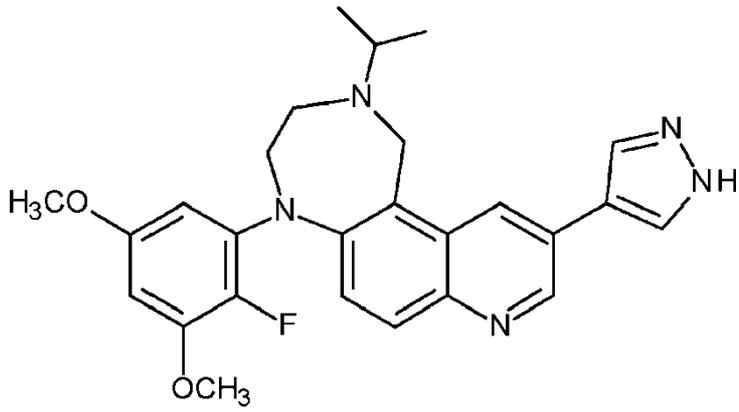
;



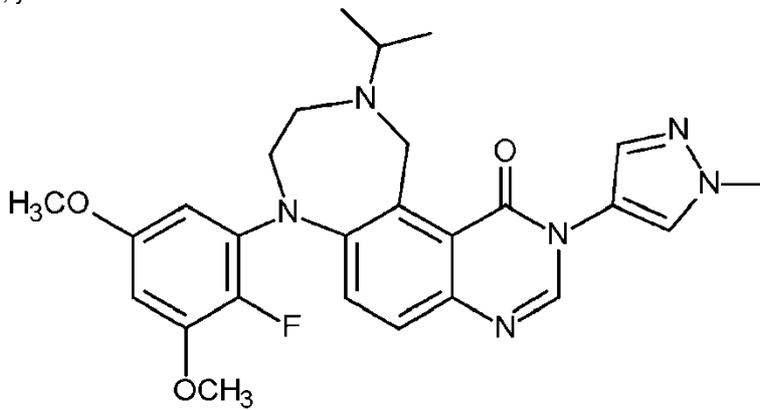
;



;



; y



- 5 una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un solvato de los mismos.  
 17. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.  
 18. Un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 para uso en terapia.  
 19. Un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 para uso en la profilaxis o el  
 10 tratamiento del cáncer.