

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 528**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
C07D 491/16 (2006.01)
C07D 491/12 (2006.01)
C07D 491/18 (2006.01)
C07D 498/18 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2016 PCT/US2016/043132**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.01.2017 WO17015367**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2016 E 16828471 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3325488**

54 Título: **Macro ciclo de diarilo quirral y uso del mismo en el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

21.07.2015 US 201562195081 P
02.03.2016 US 201662302231 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.04.2021

73 Titular/es:

TURNING POINT THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
10628 Science Center Drive, Ste. 225
San Diego, CA 92121, US

72 Inventor/es:

CUI, JINGRONG JEAN;
LI, YISHAN;
ROGERS, EVAN W.;
ZHAI, DAYONG;
DENG, WEI y
HUANG, ZHONGDONG

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 818 528 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

Macrociclo de diarilo quiral y uso del mismo en el tratamiento del cáncer

5 **Campo técnico**

Esta divulgación se refiere al uso de ciertos compuestos macrocíclicos de diarilo, específicamente a la (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazaciclodecín-4(5H)-ona en el tratamiento de enfermedades en mamíferos. Esta divulgación también se refiere a composiciones que incluyen dichos compuestos y a métodos de uso de dichas composiciones en el tratamiento de enfermedades en mamíferos, especialmente en seres humanos.

Antecedentes

15 Las proteína-quinasas son reguladores clave para el crecimiento, la proliferación y la supervivencia celulares. Las alteraciones genéticas y epigenéticas se acumulan en las células cancerosas dando lugar a una activación anormal de las rutas de transducción de señales, que inician procesos malignos. (Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The protein kinase complement of the human genome. *Science* 2002, 298, 1912-1934). La inhibición farmacológica de estas rutas de señalización presenta unas oportunidades intervención prometedoras para las terapias oncológicas dirigidas. (Sawyers, C. Targeted cancer therapy. *Nature* 2004, 432, 294-297).

La cinasa de linfoma anaplásico (ALK), junto con la tirosina-kinasa de leucocitos (LTK), pertenece a la superfamilia del receptor de insulina (IR) de tirosina-quinasas receptoras. La ALK se expresa fundamentalmente en el sistema nervioso central y periférico, lo que sugiere un papel potencial en un desarrollo y función normales del sistema nervioso. (Pulford K, et al *Cell Mol. Life Sci.* 2004, 61, 2939). La ALK se descubrió por primera vez como una proteína de fusión, la NPM (nucleofosmina)-ALK, codificada por un gen de fusión que surge a partir de la translocación cromosómica t(2;5)(p23;q35) en líneas celulares de linfoma anaplásico de células grandes (ALCL) en 1994. (Morris SW, et al *Science* 1994, 263, 1281.) En muchos cánceres se han descubierto más de veinte compañeros de translocación de la ALK distintos, que incluyen el ALCL (incidencia del 60-90 %), tumores miofibroblásticos inflamatorios (IMT, 50-60 %), carcinomas de pulmón no microcíticos (NSCLC, 3-7 %), cánceres colorrectales (CRC, 0-2,4 %), cánceres de mama (0-2,4 %) y otros carcinomas de escasa incidencia. (Grande E, et al *Mol. Cancer Ther.* 2011, 10, 569.) Se han descubierto mutaciones puntuales oncogénicas de la ALK en casos tanto familiares como esporádicos de neuroblastoma. (Mosse YP, et al *Nature* 2008, 455, 930-935.) Las ALK tanto de fusión como mutantes son muy oncogénicas, lo que genera un considerable interés y esfuerzos en el desarrollo de inhibidores de la ALK para el tratamiento de tumores hematopoyéticos, sólidos y mesenquimatosos con un gen ALK anormal. (Grande, E, et al *Mol. Cancer Ther.* 2011, 10, 569-579.). El crizotinib fue aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de EE.UU. para el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico positivo para la ALK. Al igual que con muchas terapias dirigidas de inhibidores de la cinasa, se desarrolló una resistencia farmacológica al crizotinib en aproximadamente 10 meses. Algunos mecanismos de resistencia farmacológica incluyen la amplificación o la sobreexpresión del gen objetivo, el desarrollo de mutaciones de aminoácidos secundarias y el uso de rutas de señalización alternativas (la denominada "resistencia de elusión"). Como resultado, se han desarrollado inhibidores de la ALK de segunda generación para que sean más potentes frente a las ALK naturales y muchas mutantes. Una de dichas mutaciones es la mutación guardiana ALK^{L1196M}. El ceritinib fue aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de EE.UU. para el tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico positivo para la ALK que muestran progresión de la enfermedad o que son intolerantes al crizotinib. Aunque en ensayos clínicos se han investigado muchos inhibidores de segunda generación de la ALK, han aparecido nuevas mutaciones de la ALK resistentes a los inhibidores de segunda generación de la ALK. Por ejemplo, se ha encontrado la mutación G1202R en tumores resistentes a crizotinib, ceritinib y alectinib. (Politi K, *Clin Cancer Res.* 2014, 20, 5576.) Se ha averiguado que se expresan nuevas isoformas de ALK, que consisten fundamentalmente en el dominio intracelular de la tirosina-kinasa, en el ~ 11 % de los melanomas y esporádicamente en otros tipos de cáncer humano, pero no en los tejidos normales (Wiesner T, et al *Nature* 2015, 526, 453-457). Estas nuevas isoformas de la ALK estimulan múltiples rutas de señalización oncogénicas y son sensibles a los inhibidores de la ALK, lo que sugiere potenciales beneficios clínicos de la inhibición de la ALK.

55 Los cánceres de pulmón no microcíticos portadores de reordenamientos en el gen ALK son sensibles al tratamiento con el inhibidor de la ALK crizotinib. Sin embargo, la aparición de la resistencia a los fármacos es universal y limita rápidamente su utilidad clínica. Los mecanismos de resistencia incluyen la amplificación del gen de la ALK, mutaciones de aminoácido de la ALK adquiridas, la activación de la ruta de elusión y la transición epitelial-mesenquimatosa (EMT) (Katayama R 2012). (Katayama R., et al *Sci Transl Med.* 2012, 4 (120): 120ra17) La elusión y la EMT constituyen la mayor parte de la población con resistencia adquirida. Merece la pena destacar que el 30-40 % de los pacientes positivos para la fusión ALK tienen una resistencia intrínseca al tratamiento inhibidor de la ALK. Los NSCLC con la ALK reordenada son típicamente adenocarcinomas caracterizados por un sólido patrón celular en anillo grabado que frecuentemente está asociado con un fenotipo metastásico y relacionado con un fenotipo de transición epitelial-mesenquimatosa (EMT). (Voena C, et al. *Oncotarget*, 23 abril de 2016, 8955) La línea celular H2228 con el gen de fusión *EML4-ALK v3* mostró un fenotipo mesenquimatoso con la supresión directa de la

E-cadherina y la regulación por aumento de la expresión de la vimentina, así como la expresión de otros genes implicados en la EMT. La línea celular H2228 confiere resistencia intrínseca al crizotinib y a otros inhibidores de la ALK. Por lo tanto, es necesario desarrollar un inhibidor polifarmacológico de la ALK que sea capaz de dirigirse a la EMT y a la metástasis. La resistencia por elusión se produce cuando el oncogén iniciador original y una vía de elusión secundaria se mantienen de forma redundante en la señalización anterógrada para favorecer la supervivencia y la proliferación celulares. Por ejemplo, La inhibición de la ALK en modelos de ALK derivados de un paciente ha demostrado regular por aumento la actividad SRC. La combinación de un inhibidor de Src tirosina cinasa con un inhibidor de la ALK demostró ser eficaz para suprimir la señalización anterógrada, generó un efecto de inhibición sinérgico y resensibilizó los inhibidores de la ALK en los modelos de ALK derivada del paciente *in vitro* e *in vivo*. (Crystal AS, Science. 2014, 346, 1480.) La identificación de nuevos inhibidores de la ALK que puedan contrarrestar amplias mutaciones secundarias de la ALK, incluyendo la ALK^{G1202R}, e inhibir la señalización Src, será importante y muy deseada para superar de forma eficaz la resistencia farmacológica de la ALK y sostener la respuesta al tratamiento inhibidor de la ALK.

La proteína ROS1 es una tirosina cinasa receptora, estrechamente relacionada con la familia de cinasa receptora ALK/LTK y de insulina. Aunque todavía no se comprenden completamente las funciones fisiológicas normales de la cinasa ROS 1 humana, se ha notificado una expresión anormal y formas de fusión de activación constitutiva variable de la cinasa ROS 1 en diversos cánceres que incluyen glioblastoma, cáncer de pulmón no microcítico, colangiocarcinoma, cáncer de ovario, adenocarcinoma gástrico, cáncer colorrectal, tumor miofibroblástico inflamatorio, angiosarcoma y hemangioendotelio epitelioide. (Kurtis DD, et al Clin Cancer Res 2013, 19 (15), 1.) La proteína de fusión FIG-ROS1 fue la primera proteína de fusión de ROS 1 descubierta en 2003 en un glioblastoma multiforme humano. (Charest A, et al Genes Chromosomes Cancer 2003, 37, 58) Se han notificado numerosas proteínas de fusión con la cinasa ROS1 que incluyen TPM3, SDC4, SLC34A2, CD74, EZR y LRIG3 a partir de cánceres de pulmón humanos, lo que sugiere el papel oncogénico de la cinasa ROS 1 en cánceres de pulmón. (Takeuchi K, et al Nat. Med. 2012, 18, 378) El estudio de la señalización de las tirosina cinasas activadas en 23 pacientes con colangiocarcinoma confirmó la presencia de la fusión de la cinasa FIG-ROS en el 8,7 % de los pacientes con colangiocarcinoma. (Gu TL, et al PLoS One. 2011, 6, e15640.) Se han notificado más y más compañeros de fusión de ROS1 que incluyen KDEL2, CCDC6, MSN, LIMA1, CLTC, NFkB2, NCOR2, CEP85L, TMEM106B, HLA-A, MYO5A, PPFIBP1, ERC1, PWWP2A, CLIP1, ZCCHC8, SHTN1, TFG y YWHAE a partir de diversos cánceres humanos (Uquen A, et al Future Oncol. 3 de junio de 2016, Epub antes de impresión) Tomados conjuntamente, la cinasa ROS1 es un prometedor candidato objetivo con base molecular para los cánceres con actividades aberrantes de la cinasa ROS. El inhibidor ALK/MET/ROS 1 ha demostrado una notable eficacia en pacientes con NSCLC cuyos tumores son positivos para anomalías genéticas en el ROS1. (Shaw AT, et al N Engl J Med 2015, 372, 683). Como se esperaba, los pacientes positivos para el reordenamiento del ROS1 que respondían al crizotinib, experimentaron finalmente una progresión de la enfermedad. La mutación secundaria del ROS1^{G2032R} y la señalización de elusión están asociadas con la resistencia. (Awad MM, et al N Engl J Med 2013, 368, 2395) Se desea desarrollar la siguiente generación de inhibidor del ROS1 para superar la resistencia.

Las tirosina cinasas receptoras relacionadas con la tropomiosina (Trks) son receptores de alta afinidad para las neurotrofinas (NT), una familia del factor de crecimiento nervioso (NGF). La Trk fue clonada originalmente en forma de un oncogén fusionado con el gen de la tropomiosina en el dominio extracelular. Se han notificado mutaciones activadoras causadas por los reordenamientos o las mutaciones cromosómicas en la familia TRK en muchos cánceres. (Vaishnavi A, et al Cancer Discov. 2015, 5, 25) Debido a que las Trks juegan unos papeles importantes en la sensación dolorosa, así como en la señalización del crecimiento y la supervivencia de las células tumorales, los inhibidores de las cinasas receptoras Trk podrían proporcionar beneficios en el tratamiento del dolor y del cáncer.

La familia de cinasas Janus (JAK) incluye JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, y son tirosina cinasas citoplásmicas necesarias para la señalización fisiológica de las citocinas y los factores de crecimiento. (Quintas-Cardama A, et al., Nat. Rev. Drug Discov. 2011, 10(2), 127) La regulación aberrante de las rutas JAK/STAT se ha implicado en múltiples enfermedades patológicas humanas, que incluyen cáncer (JAK2) y artritis reumatoide (JAK1, JAK3). Se ha descubierto o una mutación de aumento de función de la JAK2 (JAK2V617F) con alta frecuencia en pacientes con MPN. (Levine RL, et al. Cancer Cell 2005, 7, 387) La mutación en el dominio de pseudocinasa JH2 de la JAK2 da lugar a una actividad de cinasa constitutivamente. Las células que contienen la mutación JAK2V617F adquieren la capacidad de crecer independientemente de las citocinas y a menudo se vuelven tumorales, proporcionando un importante fundamento para el desarrollo de inhibidores de la JAK como una terapia dirigida. Además, la hiperactivación de los JAK2/ transductores de señales y activadores de la transcripción 3 (JAK2/STAT3) es responsable de la anormal diferenciación de las células dendríticas, dando lugar a una diferenciación anormal de las células dendríticas y la acumulación de células mieloides inmunodepresoras en el cáncer (Nefedova Y, et al. Cancer Res 2005, 65, 9525). En los tumores senescentes con anulación Pten, la activación de la ruta JAK2/STAT3 establece un microentorno tumoral inmunodepresor que contribuye al crecimiento y la quimiorresistencia del tumor (Toso A, et al. Cell Reports 2014, 9, 75). Se han encontrado fusiones del gen JAK2 con los genes TEL(ETV6) (TEL-JAK2) y PCM1 en pacientes con leucemia. (Lacronique V, et al. Science 1997, 278, 5341, 1309-12. Reiter A, et al. Cancer Res. 2005, 65, 7, 2662-7.) Se notificó que la ruta de señalización JAK/STAT3 estaba aumentada de forma aberrante en las células de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) mutantes para EGFR resistentes a los inhibidores del EGFR, y la inhibición de JAK2 supera la resistencia adquirida a los inhibidores del EGFR que respalda el uso de politerapia con inhibidores de JAK y EGFR para el tratamiento del NSCLC dependiente del

EGFR. (Gao SP, *et al.* *Sci Signal.* 2016, 9 (421):ra33) La señalización JAK/STAT3 favorece los rasgos cancerosos en el tumor y su entorno, que incluyen proliferación, supervivencia, angiogénesis, metabolismo tumoral a la vez que suprime la inmunidad antitumoral. (Buchert M, *et al.* *Oncogene*, 2016, 35, 939-951) La inhibición de la activación dependiente de citocinas de la ruta JAK/STAT3 con inhibidores de la JAK también puede proporcionar oportunidades de tratamiento ortogonal para otras células cancerosas adictas al oncogén que han adquirido resistencia farmacológica. Se observó una amplificación localizada del gen JAK2 posterior a la quimioterapia en cánceres de mama triple negativos (TNBC) en un grupo de tumores amplificados 9p24, lo que se sugiere un papel en la tumorigenicidad y la quimiorresistencia. (Balko JM, *et al.* *Sci Transl Med.* 2016, 8(334):ra53) Por lo tanto, la inhibición farmacológica de la rutas de señalización de la JAK2 puede ser una nueva estrategia terapéutica importante para mejorar la actividad antitumoral. c-Src es una tirosina cinasa citoplásmica. La familia Src (SFK) comprende ocho miembros en los seres humanos (Src, Fyn, Yes, Lyn, Lck, Hck, Blk y Fgr) con un peso molecular entre 52-62 KDa. La Src y los miembros de su familia están desregulados en muchos tipos de cáncer. La Src es un transductor anterógrado clave de muchas RTK, que incluyen EGFR, HER2 y c-Met. La activación de la señalización Src se ha implicado en la atribución de resistencia terapéutica a terapias antiendocrinas dirigidas, terapias de tirosina cinasa receptora, quimioterapias tradicionales y radioterapias. (Zhang S, *et al.* *Trends Pharmacol Sci.* 2012, 33, 122). La SRC puede favorecer la señalización desde los receptores de factores de crecimiento de diversas formas, que incluyen la participación en rutas de señalización necesarias para síntesis de ADN, el control del recambio del receptor, el reordenamiento del citoesqueleto de actina, la migración, la adhesión, la invasión, la motilidad y la supervivencia. (Bromann PA, *Oncogene* 2004, 23, 7957-7968) Se ha notificado un destacado papel de la Src en acontecimientos relacionados con la progresión tumoral tales como la transición epitelial-mesenquimatosa (EMT) y el desarrollo de metástasis a través de la interacción con el potente supresor de la metástasis, el gen N-myc 1 regulado anterógradamente (NDRG1), que regula la migración de la célula cancerosa mediante la inhibición de la actividad de la Src. (Liu W, *et al.* *Oncotarget.* 2015, 6: 35522-35541) Aunque los inhibidores del EGFR han conseguido un éxito significativo en la mayoría de los pacientes con NSCLC portadores de mutaciones activadoras del EGFR, un subconjunto de pacientes con mutaciones del EGFR son resistentes a los EGFR-TKI. Según parece, la resistencia a los inhibidores del EGFR implica la activación de la SRC y la inducción de la transición de epitelial a mesenquimatosa (EMT). La resistencia primaria a los EGFR-TKI está asociada con unos mayores niveles de expresión de CRIPTO1. La CRIPTO1 activó la SRC y la ZEB1 para favorecer la EMT a través de la regulación por disminución del microARN-205 (miR-205). Por lo tanto, el direccionamiento conjunto al EGFR y la SRC puede superar la resistencia intrínseca al inhibidor del EGFR en pacientes con NSCLC positiva para CRIPTO1 con el EGFR mutado. (Park, K-S, *et al.* *J Clin Invest.* 2014, 124(7):3003-3015) La cinasa de adhesión focal (FAK) es una tirosina cinasa citoplásmica de 125 kDa y juega un papel significativo en la adhesión, la supervivencia, la motilidad, la metástasis, la angiogénesis, la linfangiogénesis, las funciones de la célula madre cancerosa, el microentorno tumoral y la transición de epitelial a mesenquimatosa (EMT). (Golubovskaya VM, *Front Biosci (Landmark Ed.)*; 19: 687-706) La FAK nuclear controla la transcripción de quimiocinas, linfocitos Treg y la inmunidad antitumoral de evasión, y el inhibidor de molécula pequeña de la cinasa FAK, VS-4718, dirige el agotamiento de los linfocitos Treg y favorece una respuesta antitumoral mediada por los linfocitos T CD8+. (Serrels A, *et al.* *Cells* 2015, 163, 160-173). Por lo tanto, Los inhibidores de la FAK pueden desencadenar una regresión tumoral con mediación inmunitaria. La FAK está hiperactivada en el adenocarcinoma ductal pancreático humano (PDAC) y se correlaciona con un microentorno tumoral inmunodepresor (TME). El direccionamiento a la cinasa de adhesión focal hace que los cánceres pancreáticos se vuelvan sensibles a la inmunoterapia de punto de control superando el TME del PDAC fibrótico e inmunodepresor en modelos murinos. (Jiang H, *et al.* *Nat Med.* 4 de julio de 2016 [Epub antes de impresión]). Recientemente se ha notificado que el saracatinib, un inhibidor selectivo de la SRC, puede resensibilizar el inhibidor de las líneas celulares resistentes a la ALK, demostrando el papel terapéutico de la inhibición de la SRC para superar la resistencia al inhibidor de la ALK. (Crystal AS, *et al.* *Science* 2014, 346, 1480-1486) Por lo tanto, el inhibidor de la Src/FAK puede jugar papeles importantes en regímenes de combinación para superar la resistencia a las actuales terapias antineoplásicas y en la prevención de la reaparición de metástasis, de la EMT y de la resistencia al tratamiento oncológico. El miembro 5 de la familia de la proteína cinasa activada por AMP (ARK5), denominado también NAUK1, es un regulador retrógrado de la AMPK y limita la síntesis de la proteína a través de la inhibición de la ruta de señalización de la rapamicina 1 (mTORC1). El ARK5 mantiene la expresión de los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial y la capacidad respiratoria para un metabolismo eficaz de la glutamina. El ARK5 está muy expresado tanto en los tejidos primarios como en las líneas celulares del NSCLC, que está asociado funcionalmente con la metástasis del NSCLC y es un factor de mal pronóstico para los pacientes con NSCLC. El ARK5 modulaba la migración y la invasión de las células del NSCLC y jugaba unos papeles cruciales en la ruta mTOR. (Shi L, *et al.* *Br J Cancer.* 2014, 111(12):2316-27) Se notificó que el ARK5 confiere resistencia a la doxorubicina en el HCC a través de la inducción de la EMT. (Xu T, *et al.* *Cancer Lett.* 2016, 377 (2): 140-8) La expresión desregulada de la oncoproteína MYC está asociada con muchos tumores humanos. La MYC favorece el crecimiento y la proliferación celular y altera el metabolismo celular. La inhibición del ARK5 conduce a un colapso en los niveles celulares de ATP en las células que expresan la MYC desregulada, y prolonga la supervivencia en modelos murinos de carcinoma hepatocelular dirigido por la MYC. (Liu L, *et al.* *Nature*, 2012, 483, 608-612) Por lo tanto, el direccionamiento a la homeostasis de la energía celular por parte del inhibidor del ARK5 es una estrategia terapéutica válida para eliminar células tumorales con una expresión desregulada de la MYC.

La Src es una tirosina cinasa citoplásmica que está desregulada en muchos tipos de cáncer, y un transductor anterógrado clave de muchas RTK, que incluyen EGFR, HER2 y c-Met. La activación de la señalización Src se ha implicado en la atribución de resistencia terapéutica a terapias antiendocrinas dirigidas, terapias de tirosina cinasa

receptora, quimioterapias tradicionales y radioterapias. (Zhang S, et al Trends Pharmacol Sci. 2012, 33, 122). El inhibidor de la Src puede jugar papeles importantes en regímenes de combinación para superar la resistencia a las actuales terapias antineoplásicas y en la prevención de la reaparición de metástasis. Las tirosina cinasas citoplásmicas de la familia Src (SFK) juegan unos papeles importantes en la transducción de señales inducida por un gran número de estímulos extracelulares que incluyen factores de crecimiento e integrinas. Se encuentra una elevada actividad de la SFK en más del 80 % de los cánceres colorrectales humanos (CRC) y esto se ha asociado con un mal desenlace clínico. (Summy JM, et al. Cancer Metastasis Rev. 2003, 22, 337-358) El miembro Yes de las SFK regula rutas de señalización oncogénica específicas importantes para la progresión del cáncer de colon que no es compartida con la c-Src. (Scancier F. et al. PLoS One. 2011,6 (2): e17237) Se encontraron genes de fusión WASF2-FGR en carcinoma epidermoide de pulmón, adenocarcinoma quístico seroso ovárico y melanoma cutáneo. (Stransky N, et al. Nature Communications 2014, 5, 4846) Los cánceres de mama positivos para el receptor de estrógenos (ER+) se adaptan a la privación hormonal y se vuelven resistentes a la terapia antiestrogénica. Las mutaciones en el dominio inhibidor SH2 de la cinasa de la familia SRC (SFK) LYN se relacionaron con tumores ER+ que permanecían muy proliferativos después del tratamiento con el inhibidor de la aromatasa letrozol. El LYN estaba regulado por aumento en múltiples líneas celulares de cáncer de mama ER+ resistentes a la privación de estrógenos a largo plazo. (Schwarz LJ, et al. J Clin Invest. 2014, 124, 5490-5502) Por lo tanto, el direccionamiento al LYN debería ser una estrategia inteligente para superar la evitación de los antiestrógenos en un subconjunto de cánceres de mama ER+. Se notificó que el LYN estaba sobreexpresado en cánceres de próstata resistentes a la castración (CRPC), actividad transcripcional de AR mejorada y progresión acelerada del CRPC, y el direccionamiento a la cinasa Lyn indujo la disociación de AR de la chaperona molecular Hsp90, dando lugar a su ubiquitinación y degradación proteasómica. (Zardan A., et al. Oncogenesis 2014, 3, e115) La tirosina·cinasa Lyn es un potencial objetivo terapéutico para el tratamiento del CRPC. La cinasa FYN de la familia Src está implicada en las rutas de transducción de señales en el sistema nervioso, así como en el desarrollo y la activación de los linfocitos T en las condiciones fisiológicas normales. Se observa la activación de la Fyn en diversos cánceres, que incluyen melanoma, glioblastoma, carcinoma epidermoide, cáncer de próstata y de mama. (Elias D., et al. Pharmacological Research 2015, 100, 250-254) La Fyn estaba regulada por aumento en las líneas celulares de cáncer de mama resistentes al tamoxifeno, y juega un papel clave en el mecanismo de resistencia. Los linfomas de linfocitos T periféricos (PTCL) son un grupo heterogéneo de agresivos linfomas no hodgkinianos con un mal pronóstico. Se encontraron mutaciones activadoras de la FYN en el PTCL, y favorecían el crecimiento de las células transformadas a través de la expresión de alelos mutantes de la FYN activada. Los inhibidores de la cinasa SRC pueden jugar unos papeles importantes en el tratamiento de los PTCL. (Couronne L, et al. Blood 2013, 122, 811).

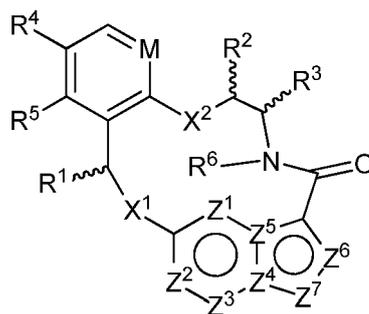
Los receptores con dominio discoidina (DDR) son activados por los colágenos de la matriz y se han implicado en numerosas funciones celulares tales como la proliferación, la diferenciación, la adhesión, la migración y la invasión. Los DDR juegan un papel en la progresión del cáncer regulando las interacciones de las células tumorales con su matriz de colágeno circundante. El DDR1 es un objetivo transcripcional p53 directo, y la activación del DDR1 está asociada con daños en el ADN dependientes del p53. El DDR1 activó la cascada de MAPK de una forma dependiente de Ras. La inhibición de la función del DDR1 dio lugar a un aumento en la apoptosis de las células que contienen el p53 natural en respuesta al estrés genotóxico a través de una ruta dependiente de la caspasa. (Ongusaha PP, et al. EMBO J. 2003, 22, 1289-1301) Los DDR se identificaron como una de las muchas tirosina cinasas principales activadas portadoras de mutaciones somáticas en el cáncer de pulmón (Hammerman PS, et al. Cancer Discov. 2011, 1, 78-89.), en cáncer de endometrio seroso y de células claras (Rudd ML, et al. BMC Cancer 2014, 14, 884), así como en la leucemia mieloide aguda. (Tomasson MH, et al. Blood 2008, 111:4797-4808) El adenocarcinoma de pulmón mutante para el homólogo del oncogén vírico de sarcoma de rata avanzado (*KRAS*) es problemático debido a la ausencia de terapias dirigidas eficaces. La inhibición simultánea de la señalización DDR1 y Notch indujo la regresión del *KRAS*; xenoinjertos de pulmón derivados de un paciente mutante para *TP53*- (PDX), lo que indica que la inhibición combinada de la señalización DDR1 y Notch podría ser una terapia dirigida eficaz para los pacientes con adenocarcinoma de pulmón mutante para el *KRAS*. (Ambrogia C, et al, Nature Medicine, 2016, 22, 270-277).

Es deseable preparar compuestos que tengan actividad frente a los inhibidores de la cinasa inductores de enfermedad, especialmente compuestos que tengan actividad frente a múltiples cinasas, incluyendo frente a múltiples cinasas alteradas genéticamente, para su uso como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades. También se desean nuevos compuestos con perfiles polifarmacológicos para su direccionamiento a los iniciadores oncogénicos primarios y sus mecanismos de resistencia adquirida que incluyen las mutaciones secundarias, la señalización por subrutas, la EMT, la pluripotencialidad del cáncer y la metástasis.

Sumario

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

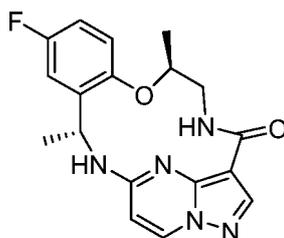
Los compuestos de la fórmula I



I

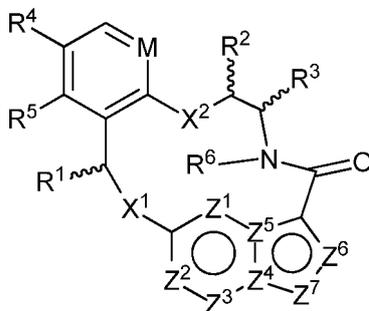
en donde X^1 , X^2 , Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 , Z^5 , Z^6 , Z^7 , M, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 se definen como se describe en el presente documento, han demostrado tener actividad frente a la ALK (cinasa de linfoma anaplásico) natural y mutante, el ROS1 natural y mutante (protooncogén ROS1 de tirosina cinasa receptora), la familia de cinasas TRK (tirosina cinasas receptoras relacionadas con la tropomiosina, las TRKA/B/C), la JAK2 de la familia de cinasas Janus y la SRC (familia c-Src de tirosina proteína cinasas (SFK)).

Uno de dichos compuestos es la (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*Z*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5*H*)-ona (denominada también en el presente documento "Compuesto 1"), representada por la fórmula



se ha demostrado que es un potente inhibidor de cinasas de molécula pequeña multiobjetivo que muestra actividad frente a la ALK (cinasa de linfoma anaplásico) natural y mutante, el ROS1 natural y mutante (protooncogén ROS1 de tirosina cinasa receptora), la familia de cinasas TRK (tirosina cinasas receptoras relacionadas con la tropomiosina, las TRKA/B/C), la JAK2 de la familia de cinasas Janus y la SRC (familia c-Src de tirosina proteína cinasas (SFK)). El Compuesto 1 tiene unas propiedades, que incluyen propiedades antitumorales, que están mediadas farmacológicamente a través de la inhibición de las tirosina cinasas receptoras y citoplásmicas. El Compuesto 1 se divulga en la Solicitud de Patente Internacional nº PCT/US2015/012597.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad en un paciente que comprende, la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I



I

en donde

M es CR^{4a} o N;

X^1 y X^2 son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);

R^1 es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en

donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

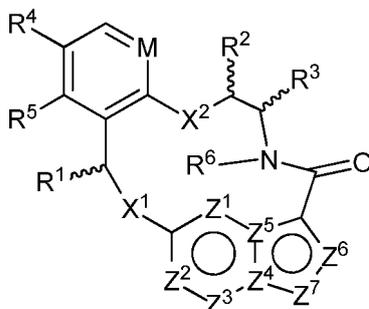
R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer en un paciente que previamente ha mostrado la expresión de una tirosina o serina/treonina cinasa alterada genéticamente que comprende, la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I



I

en donde

M es CR^{4a} o N;

X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);

R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

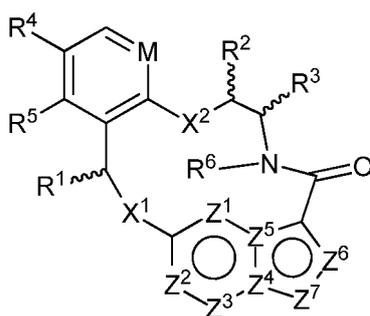
cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer en un paciente que comprende;

- i. identificar una tirosina o serina treonina cinasa alterada genéticamente en el paciente, y
- ii. administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I

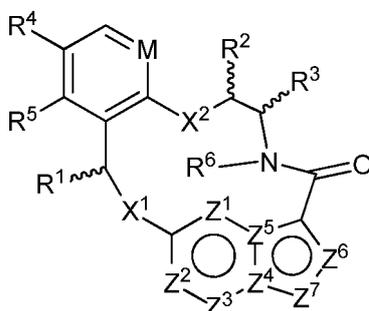


I

en donde

- 5 M es CR^{4a} o N;
 X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);
 R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸;
 en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y
 10 arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil
 C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -
 NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -
 NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O
 alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-
 15 C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -
 NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -
 N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-
 C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -
 C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -
 20 S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂,
 cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;
 cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆,
 cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-
 C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente
 25 sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -
 NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-
 C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-
 C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-
 C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -
 30 N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -
 NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-
 C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -
 C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-
 C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil
 C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;
 35 R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆,
 -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;
 R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el
 alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por
 40 halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -
 CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;
 cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo
 C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;
 cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆,
 heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de
 45 hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7
 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por
 deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;
 cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es
 independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -
 50 NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y
 siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para la identificación de un paciente para su tratamiento con un compuesto de la fórmula I



I

5 en donde

M es CR^{4a} o N;

X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);

10 R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

25 cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

35 R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

40 R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

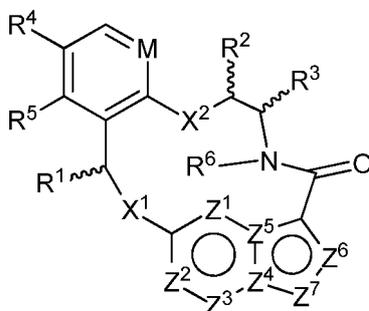
45 cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

50 cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,
que comprende el diagnóstico en el paciente de un cáncer mediado por una tirosina o serina/treonina cinasa alterada genéticamente.

5 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un uso del compuesto de la fórmula I



I

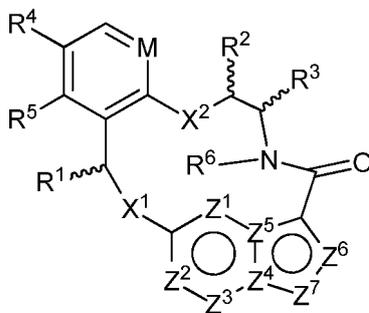
en donde

- 10 M es CR^{4a} o N;
X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);
R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en
15 donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-
C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -
NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -
NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂,
-N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil
20 C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -
NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -
NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-
C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-
C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O)
25 alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -
S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7
miembros;
cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆,
cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆,
alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente
30 sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)
alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -
N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O
alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-
C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -
35 N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -
NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil
C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -
C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -
S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -
40 P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;
R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -
NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;
R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo
C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno,
45 -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -
CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;
cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-
C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;
cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆,
heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de
50 hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7
miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por
deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

cada Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 , Z^5 , Z^6 o Z^7 es independientemente N, NH o $C(R^{10})$, en donde cada R^{10} es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C_1-C_6 , -O alquil C_1-C_6 , -OH, -NH₂, -NH(alquil C_1-C_6), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 , Z^5 , Z^6 o Z^7 sea N o NH;

5

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un uso del compuesto de la fórmula I



I

10

en donde

M es CR^{4a} o N;

X^1 y X^2 son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o $N(R^9)$;

15

R^1 es alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , arilo C_6-C_{10} , -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 y arilo C_6-C_{10} está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C_1-C_6 , -NH₂, -NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)₂, -NHC(O) alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)C(O) alquil C_1-C_6 , -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)C(O)NH₂, -N(alquil C_1-C_6)C(O)NH alquil C_1-C_6 , -NHC(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)C(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -NHC(O)O alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)C(O)O alquil C_1-C_6 , -NHS(O)(alquil C_1-C_6), -NHS(O)₂(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂(alquil C_1-C_6), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)NH₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C_1-C_6), -NHS(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -NHS(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -NHS(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C_1-C_6 , -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C_1-C_6), -C(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -S alquil C_1-C_6 , -S(O) alquil C_1-C_6 , -S(O)₂ alquil C_1-C_6 , -S(O)NH(alquil C_1-C_6), -S(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -S(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -S(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -P(alquil C_1-C_6)₂, -P(O)(alquil C_1-C_6)₂, cicloalquilo C_3-C_6 o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

20

25

30

cada uno de R^2 y R^3 es independientemente H, deuterio, alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , arilo C_6-C_{10} , -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 y arilo C_6-C_{10} está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C_1-C_6 , -NH₂, -NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)₂, NHC(O) alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)C(O) alquil C_1-C_6 , -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)C(O)NH₂, -N(alquil C_1-C_6)C(O)NH alquil C_1-C_6 , -NHC(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)C(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -NHC(O)O alquil C_1-C_6 , -NHS(O)(alquil C_1-C_6), -NHS(O)₂(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂(alquil C_1-C_6), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)NH₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C_1-C_6), -NHS(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -NHS(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -NHS(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)S(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -N(alquil C_1-C_6)S(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C_1-C_6 , -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C_1-C_6), -C(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -S alquil C_1-C_6 , -S(O) alquil C_1-C_6 , -S(O)₂ alquil C_1-C_6 , -S(O)NH(alquil C_1-C_6), -S(O)₂NH(alquil C_1-C_6), -S(O)N(alquil C_1-C_6)₂, -S(O)₂N(alquil C_1-C_6)₂, -P(alquil C_1-C_6)₂, -P(O)(alquil C_1-C_6)₂, cicloalquilo C_3-C_6 o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

35

40

45

R^4 , R^{4a} y R^5 son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C_1-C_6 , -OH, -CN, -O alquil C_1-C_6 , -NH alquil C_1-C_6 , -N(alquil C_1-C_6)₂ o -CF₃;

50

R^6 es H, alquilo C_1-C_6 o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C_1-C_6 o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C_1-C_6 , -NH₂, -NH(alquil C_1-C_6), -N(alquil C_1-C_6)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C_1-C_6 , -CONH₂, -CONH(alquil C_1-C_6), -CON(alquil C_1-C_6)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

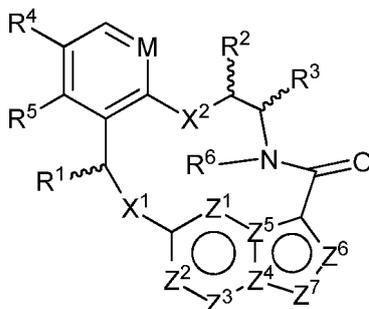
cada R^7 y R^8 es independientemente H, deuterio, alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C_6-C_{10} ;

cada R^9 es independientemente H, deuterio, alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C_6-C_{10} o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , heterocicloalquilo de 3 a 7

miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷; cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O- alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer en un paciente.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso del compuesto de la fórmula I



I

10

en donde

M es CR^{4a} o N;

X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);
 R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

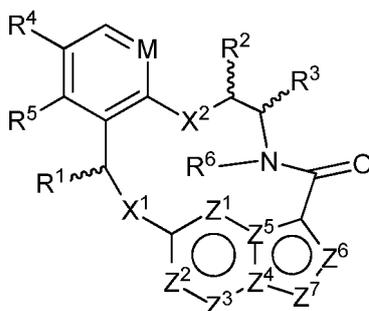
cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de

hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

5 cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O- alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del dolor en un paciente.

10 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona uso de un compuesto de la fórmula I

10



I

en donde

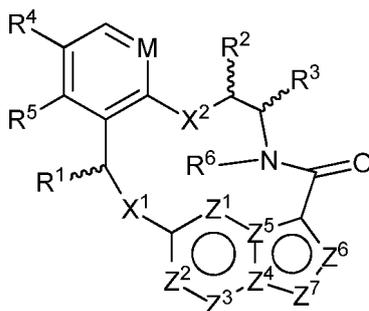
15 M es CR^{4a} o N;
 X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);
 R¹ es alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;
 20 cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;
 35 R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;
 R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;
 40 cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;
 cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆,

50

heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer en un paciente que previamente ha mostrado la expresión de una tirosina o serina/treonina cinasa alterada genéticamente.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un uso del compuesto de la fórmula I



I

15 en donde

M es CR^{4a} o N;

X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);

R¹ es alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico;

cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-

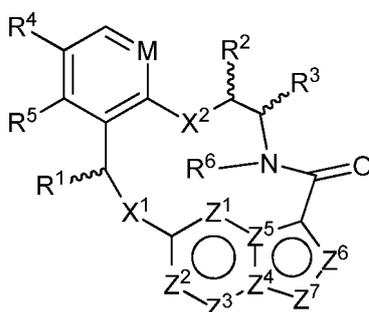
C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por

deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷; cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer en un paciente, en donde el paciente ha sido tratado previamente con un oncoterápico, y el cáncer ha desarrollado resistencia al oncoterápico.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I



I

en donde

M es CR^{4a} o N;

X¹ y X² son independientemente S, S(O), S(O)₂, O o N(R⁹);

R¹ es alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

cada uno de R² y R³ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, arilo C₆-C₁₀, -C(O)OR⁷ o -C(O)NR⁷R⁸; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ y arilo C₆-C₁₀ está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O) alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O) alquil C₁-C₆, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH alquil C₁-C₆, -NHC(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHC(O)O alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)C(O)O alquil C₁-C₆, -NHS(O)(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂(alquil C₁-C₆), -NHS(O)NH₂, NHS(O)₂NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂NH₂, -NHS(O)NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -NHS(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -NHS(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)S(O)NH(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -C(O)O alquil C₁-C₆, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquil C₁-C₆), -C(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S alquil C₁-C₆, -S(O) alquil C₁-C₆, -S(O)₂ alquil C₁-C₆, -S(O)NH(alquil C₁-C₆), -S(O)₂NH(alquil C₁-C₆), -S(O)N(alquil C₁-C₆)₂, -S(O)₂N(alquil C₁-C₆)₂, -P(alquil C₁-C₆)₂, -P(O)(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo C₃-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros;

R⁴, R^{4a} y R⁵ son cada uno independientemente H, flúor, cloro, bromo, alquilo C₁-C₆, -OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH alquil C₁-C₆, -N(alquil C₁-C₆)₂ o -CF₃;

R⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆ o el heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros está independientemente opcionalmente sustituido por halógeno,

-OH, -CN, -O alquil C₁-C₆, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)₂, -CO₂H, -CO₂ alquil C₁-C₆, -CONH₂, -CONH(alquil C₁-C₆), -CON(alquil C₁-C₆)₂, cicloalquilo o heterocicloalquilo monocíclico; cada R⁷ y R⁸ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo o heteroarilo C₆-C₁₀;

5 cada R⁹ es independientemente H, deuterio, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico; en donde cada átomo de hidrógeno en el alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido por deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆ u -OR⁷;

10 cada Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ es independientemente N, NH o C(R¹⁰), en donde cada R¹⁰ es independientemente H, deuterio, halógeno, alquilo C₁-C₆, -O alquil C₁-C₆, -OH, -NH₂, -NH(alquil C₁-C₆), -NH(fenil), -NH(heteroaril), -CN o -CF₃, y siempre que al menos uno de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ o Z⁷ sea N o NH; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer en un paciente que previamente ha mostrado la expresión de una tirosina o serina/treonina cinasa alterada genéticamente, en donde

15 el paciente ha sido tratado previamente con un oncoterápico, y el cáncer ha desarrollado resistencia al oncoterápico.

En algunas realizaciones de los aspectos descritos anteriormente, el compuesto es (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenpirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriaza-ciclotridecín-4(5H)-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por una tirosina o serina/treonina cinasa seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC, JAK2, SRC, FAK, ARK5, y combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones la enfermedad está mediada por una tirosina cinasa receptora. En algunas realizaciones, la

25 tirosina cinasa receptora se selecciona del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB y TRKC. En algunas realizaciones, la tirosina cinasa receptora se selecciona del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB y TRKC. En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por una cinasa citoplásmica. En algunas realizaciones, la cinasa citoplásmica es JAK2, SRC, FAK o ARK5. En algunas realizaciones, la cinasa citoplásmica es JAK2, SRC, FAK o ARK5. En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por una

30 tirosina cinasa citoplásmica. En algunas realizaciones, la tirosina cinasa citoplásmica es JAK2, SRC o FAK. En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por una serina/treonina cinasa citoplásmica. En algunas realizaciones, la serina/treonina cinasa citoplásmica es ARK5. En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por una proteína tirosina cinasa. En algunas realizaciones, la proteína tirosina cinasa es TXK. En algunas realizaciones, la enfermedad está mediada por un receptor con dominio discoidina. En algunas realizaciones, el

35 receptor con dominio discoidina es DDR1. En algunas realizaciones, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en cáncer, psoriasis, artritis reumatoide, policitemia vera, trombocitemia esencial, colitis ulcerosa y metaplasia mioleide con mielofibrosis y dolor.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la ALK. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una ALK alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ALK y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un

40 cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ALK y un fragmento de una proteína codificada por un gen seleccionado del grupo que consiste en NPM, EML4, TPR, TFG, ATIC, CLTC1, TPM4, MSN ALO17 y MYH9. En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ALK y un fragmento de una proteína codificada por un gen EML4. En algunas realizaciones, la ALK alterada genéticamente es una proteína de fusión EML4-ALK. En algunas realizaciones, la proteína de fusión EML4-ALK es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión EML4-ALK comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión EML4-ALK comprende al menos una mutación seleccionada del grupo que consiste en una inserción L1196M, G1202R, D1203R, L1152P/R, F1174C/L/V, C1156Y, I1171N, G1123S, S1206Y, G1269S/A y 1151T.

En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ALK y un fragmento de una proteína codificada por un gen NPM. En algunas realizaciones, la ALK alterada genéticamente es una proteína de fusión NPM-ALK. En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ALK y un fragmento de una proteína codificada por un gen TPR. En algunas realizaciones, la ALK alterada genéticamente es una proteína de fusión TPR-ALK. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TPR-ALK es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TPR-ALK

55 comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TPR-ALK comprende una mutación puntual L1196M.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la ALK. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una ALK alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la ALK que tiene una o más mutaciones puntuales. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la ALK que tiene una o más mutaciones

65

puntuales seleccionadas del grupo que consiste en R1050H, F1174C/I/L/S/V, F1245C/I/L/V, R1275L/Q, T1151M, M1166R, I1170N, I1170S, I1171N, I1183T, L1196M, A1200V, L1204F, L1240V, D1270G, Y1278S, R1192P, G1128A, G1286R y T1343I. En algunas realizaciones, la mutación puntual es una mutación en F1174. En algunas realizaciones, la mutación puntual es una mutación de ALK en F1245. En algunas realizaciones, la mutación puntual es una mutación de ALK en R1275.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por ROS1. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por un ROS1 alterado genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ROS 1 y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ROS 1 y un fragmento de una proteína codificada por un gen seleccionado del grupo que consiste en FIG, TPM3, SDC4, SLC34A2, CD74, EZR y LRIG3. En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ROS 1 y un fragmento de una proteína codificada por un gen CD74. En algunas realizaciones, el ROS 1 alterado genéticamente es una proteína de fusión CD74-ROS1. En algunas realizaciones, la proteína de fusión CD74-R0S1 es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende una mutación puntual G2032R. En algunas realizaciones, la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende una mutación puntual L2026M. En algunas realizaciones, la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende una mutación puntual D2033N. En algunas realizaciones, el ROS 1 alterado genéticamente es una proteína de fusión SDC4-ROS 1. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SDC4-ROS 1 es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SDC4-ROS 1 comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SDC4-ROS 1 comprende una mutación puntual G2032R. En algunas realizaciones, el ROS1 alterado genéticamente es una proteína de fusión SLC34A2-ROS 1. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SLC34A2-ROS 1 es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SLC34A2-ROS 1 comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión SLC34A2-ROS 1 comprende una mutación puntual G2032R.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la TRKA. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una TRKA alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKA y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKA y un fragmento de una proteína codificada por un gen TPM3. En algunas realizaciones, la TRKA alterada genéticamente es una proteína de fusión TPM3-TRKA. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TPM3-TRKA es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TPM3-TRKA comprende al menos una mutación de resistencia.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKA y un fragmento de una proteína codificada por un gen LMNA. En algunas realizaciones, la TRKA alterada genéticamente es una proteína de fusión LMNA-TRKA. En algunas realizaciones, la proteína de fusión LMNA-TRKA es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión LMNA-TRKA comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión LMNA-TRKA es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión LMNA-TRKA comprende al menos una mutación de resistencia que comprende una mutación puntual G595R.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la TRKB. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una TRKB alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKB y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKB y un fragmento de una proteína codificada por un gen QKI o un gen TEL. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKB y un fragmento de una proteína codificada por un gen QKI. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKB y un fragmento de una proteína codificada por un gen TEL. En algunas realizaciones, la TRKB alterada genéticamente es una proteína de fusión QKI-TRKB o TEL-TRKB. En algunas realizaciones, la TRKB alterada genéticamente es una proteína de fusión TEL-TRKB. En algunas realizaciones, la TRKB alterada genéticamente es una proteína de fusión QKI-TRKB. En algunas realizaciones, la proteína de fusión QKI-TRKB o TEL-TRKB es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión QKI-TRKB es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TEL-TRKB es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión QKI-TRKB o TEL-TRKB comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión QKI-TRKB comprende al menos una mutación de

resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TEL-TRKB comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión TEL-TRKB comprende una mutación puntual G639R.

5 En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la TRKC. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una TRKC alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKC y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen TRKC y un fragmento de una proteína codificada por un gen ETV6. En algunas realizaciones, la TRKC alterada genéticamente es una proteína de fusión ETV6-TRKC. En algunas realizaciones, la proteína de fusión ETV6-TRKC es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión ETV6-TRKC comprende al menos una mutación de resistencia. En algunas realizaciones, la proteína de fusión ETV6-TRKC comprende una mutación puntual G623R.

15 En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la JAK1, la JAK2 o la JAK3. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por un JAK2 alterado genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen JAK2 y un fragmento de una proteína que formará una interacción de superhélice para facilitar la dimerización o la oligomerización de la proteína. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen JAK2 y un fragmento de una proteína codificada por un gen TEL o PCM1. En algunas realizaciones, la JAK2 alterada genéticamente es una proteína de fusión TEL-JAK2. En algunas realizaciones, la JAK2 alterada genéticamente es una proteína de fusión PCM1-JAK2. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una o unas mutaciones puntuales de la JAK2. En algunas realizaciones, la JAK2 alterada genéticamente tiene la mutación JAK2V617F.

30 En algunas realizaciones, la enfermedad es dolor. En algunas realizaciones, la enfermedad es dolor mediado por la TRKA, la TRKB o la TRKC. En algunas realizaciones, el dolor está mediado por la TRKA. En algunas realizaciones, el dolor está mediado por la TRKB. En algunas realizaciones, el dolor está mediado por la TRKC. En algunas realizaciones, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en psoriasis, artritis reumatoide, policitemia vera, trombocitemia esencial, colitis ulcerosa y metaplasia mioide con mielofibrosis. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer que muestra resistencia por elusión.

35 En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por la FGR. En algunas realizaciones, la enfermedad o el cáncer es un cáncer mediado por una FGR alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen FGR y un fragmento de una proteína codificada por un gen WASF2. En algunas realizaciones, la FGR alterada genéticamente es una proteína de fusión WASF2-FGR. En algunas realizaciones, la proteína de fusión WASF2-FGR es una proteína natural. En algunas realizaciones, la proteína de fusión WASF2-FGR comprende al menos una mutación de resistencia.

45 En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en ALCL, NSCLC, neuroblastoma, tumor miofibroblástico inflamatorio, carcinoma de células renales en el adulto, carcinoma de células renales pediátrico, cáncer de mama, adenocarcinoma de colon, glioblastoma, glioblastoma multiforme y cáncer de tiroides anaplásico,.

En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en glioblastoma, glioblastoma multiforme, NSCLC, colangiocarcinoma, cáncer de ovario, adenocarcinoma gástrico, cáncer colorrectal, tumor miofibroblástico inflamatorio, angiosarcoma y hemangioma endotelioide.

50 En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en glioblastoma, glioblastoma multiforme, NSCLC, colangiocarcinoma, colangiocarcinoma intrahepático, cáncer colorrectal, cáncer papilar tiroideo, neoplasmas spitzoides, sarcoma, astrocitoma, glioma cerebral bien diferenciado, carcinoma de mama secretor, carcinoma análogo mamario, cáncer de mama, leucemia mioide aguda, nefroma mesoblástico congénito, fibrosarcomas congénitos, leucemia linfoblástica aguda con pseudotranslocación Filadelfia, adenocarcinoma de colon, carcinoma de tiroides, melanoma cutáneo, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello y glioma pediátrico.

60 En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en NSCLC, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de colon y cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el cáncer es NSCLC. En algunas realizaciones, el cáncer es neuroblastoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer colorrectal.

65 En algunas realizaciones, el paciente ha sido tratado previamente con un oncoterápico. En algunas realizaciones, el paciente ha sido tratado previamente con un oncoterápico, y el cáncer ha desarrollado resistencia al oncoterápico. En algunas realizaciones, la resistencia es una resistencia intrínseca primaria. En algunas realizaciones, la resistencia es una resistencia adquirida por mutación o mutaciones. En algunas realizaciones, la resistencia es una resistencia por elusión. En algunas realizaciones, la resistencia es una resistencia basada en EMT.

Otras realizaciones, características y ventajas adicionales de la divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y a través de la práctica de la divulgación.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La FIG. 1 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre la apoptosis de células Karpas-299. La FIG. 1A muestra la apoptosis de células Karpas-299 tras la incubación en diversas concentraciones del Compuesto 1 durante 48 horas; La FIG. 1B muestra que las células Karpas-299 se recogieron, lisaron y analizaron por SDS-PAGE y se inmunotransfirieron con anticuerpos PARP y Actina.
- 10 La FIG. 2 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre la curación de heridas en células HCC78 y HT-1080. La FIG. 3 muestra geles que demuestran que el Compuesto 1 regula por disminución la expresión del EGFR. FIG. 3A muestra los resultados después de una exposición de 4 horas al Compuesto 1 a 0 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM y 1.000 nM; FIG. 3A muestra los resultados después de una exposición de 24 horas al Compuesto 1 a 0 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM y 1.000 nM.
- 15 La FIG. 4 muestra geles que demuestran que el Compuesto 1 regula por disminución la expresión del CD44 en comparación con el mismo experimento con crizotinib, que no muestra regulación por disminución de la expresión del CD44. La FIG. 4A muestra los resultados después de una exposición al Compuesto 1 a 0 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM y 1.000 nM; La FIG. 4A muestra los resultados después de una exposición a crizotinib a 0 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM y 1.000 nM.
- 20 La FIG. 5 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo Karpas-299 *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 50 mg/kg. La FIG. 6 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo Karpas-299 *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 50 mg/kg.
- 25 La FIG. 7 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo NIH3T3 EML4-ALK NATURAL *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 50 mg/kg. La FIG. 8 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo NIH3T3 EML4-ALK NATURAL *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 50 mg/kg.
- 30 La FIG. 9 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo NIH3T3 SDC4-ROS1 NATURAL *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 50 mg/kg. La FIG. 10 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo KM12 *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg.
- 35 La FIG. 11 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo KM12 *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg. La FIG. 12 muestra la inhibición de la fosforilación de la NPM-ALK por parte del Compuesto 1 en el modelo Karpas-299 *in vivo*.
- 40 La FIG. 13 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo KM12 *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 1 mg/kg, (●) 3 mg/kg, (▲) 15 mg/kg. La FIG. 14 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo KM12 *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 1 mg/kg, (●) 3 mg/kg, (▲) 15 mg/kg.
- 45 La FIG. 15 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo Ba/F3 EML4-ALK NATURAL *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg. La FIG. 16 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo Ba/F3 EML4-ALK NATURAL *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg.
- 50 La FIG. 17 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo Ba/F3 EML4-ALK G1202R *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg. La FIG. 18 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo Ba/F3 EML4-ALK G1202R *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg.
- 55 La FIG. 19 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo Ba/F3 CD74-ROS1 NATURAL *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg. La FIG. 20 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo Ba/F3 CD74-ROS1 NATURAL *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg.
- 60 La FIG. 21 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo Ba/F3 CD74-ROS1 G2032R *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg. La FIG. 22 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo Ba/F3 CD74-ROS1 G2032R *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 15 mg/kg, (●) 75 mg/kg.
- 65 La FIG. 23 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo NIH3T3 LMNA-TRKA NATURAL *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 3 mg/kg, (●) 15 mg/kg. La FIG. 24 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo NIH3T3 LMNA-TRKA NATURAL *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 3 mg/kg, (●) 15 mg/kg.
- La FIG. 25 muestra el efecto del Compuesto 1 sobre el crecimiento tumoral en el modelo NIH3T3 LMNA-TRKA G595R *in vivo* a varias dosis, (○) control, (■) 3 mg/kg, (●) 15 mg/kg, (▲) 60 mg/kg. La FIG. 26 muestra la estabilidad del peso corporal del animal en el modelo NIH3T3 LMNA-TRKA G595R *in vivo* después de la administración del Compuesto 1 a varias dosis, (○) control, (■) 3 mg/kg, (●) 15 mg/kg, (▲) 60 mg/kg.

Descripción detallada

Antes de describir adicionalmente la presente divulgación, ha de entenderse que la presente divulgación no se limita a las realizaciones descritas en particular, ya que pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología usada en este documento es con el fin de describir realizaciones particulares únicamente y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente divulgación estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el comprendido comúnmente por un experto habitual en la materia a la que pertenece esta divulgación.

Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen las referencias en plural salvo que el contexto indique claramente otra cosa. Se aprecia además que las reivindicaciones pueden redactarse para que excluyan cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir como fundamento para el uso de dicha terminología excluyente tal como "solamente", "únicamente" y similares en relación con la mención de elementos de la reivindicación, o el uso de una limitación "negativa".

Como se usa en el presente documento, las expresiones "que incluye", "que contiene", y "que comprende" se usan en su sentido abierto no limitante.

Para proporcionar una descripción más concisa, algunas de las expresiones cuantitativas proporcionadas en el presente documento no están calificadas con el término "aproximadamente". Se entiende que, tanto si se usa explícitamente el término "aproximadamente" como si no, se entiende que cualquier cantidad proporcionada en el presente documento se refiere al valor real proporcionado, y también se entiende que se refiere a la aproximación a dicho valor proporcionado que sería razonablemente inferida sobre la base de la pericia habitual en la técnica, que incluyen equivalentes y aproximaciones debidas a las condiciones experimentales y/o de medición para dicho valor dado. Siempre que un rendimiento se proporcione como un porcentaje, dicho rendimiento se refiere a una masa de entidad para la cual se proporciona el rendimiento con respecto a la cantidad máxima de la misma entidad que podría obtenerse en las condiciones estequiométricas particulares. Las concentraciones que se proporcionan como porcentajes se refieren a proporciones en masa, a menos que se indique de una forma diferente.

Excepto cuando se indique de otro modo, los métodos y técnicas de las presentes realizaciones se llevan a cabo generalmente de acuerdo con los métodos convencionales bien conocidos en la técnica y según se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y se analizan a lo largo de la de la presente memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Loudon, *Organic Chemistry*, Cuarta edición, Nueva York: Oxford University Press, 2002, págs. 360-361, 1084-1085; Smith y March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Quinta Edición, Wiley-Interscience, 2001.

Definiciones

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye una cadena de átomos de carbono, que opcionalmente está ramificada y contiene entre 1 y 20 átomos de carbono. Además, debe entenderse que en ciertas realizaciones, el alquilo puede tener ventajosamente una longitud limitada, que incluye C₁-C₁₂, C₁-C₁₀, C₁-C₉, C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆ y C₁-C₄. De manera ilustrativa, dichos grupos alquilo de longitud particularmente limitada, que incluyen C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆ y C₁-C₄, y similares, pueden denominarse "alquilo inferior". Algunos grupos alquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, *tert*-butilo, pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo, y similares. El alquilo puede estar sustituido o sin sustituir. Algunos grupos sustituyentes típicos incluyen cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, ciano, halo, carbonilo, oxo, (=O), tiocarbonilo, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, nitro y amino, o según se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Se entenderá que el "alquilo" puede combinarse con otros grupos, tales como los proporcionados anteriormente, para formar un alquilo funcionalizado. A modo de ejemplo, la combinación de un grupo "alquilo", como se describe en el presente documento, con un grupo "carboxi" puede denominarse grupo "carboxialquilo". Otros ejemplos no limitantes incluyen hidroxialquilo, aminoalquilo y similares.

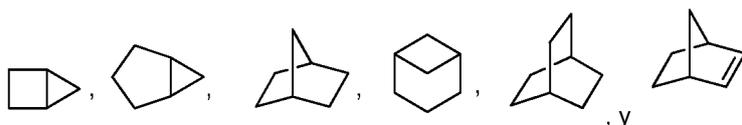
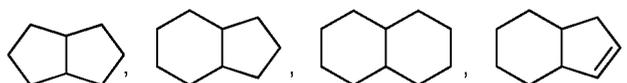
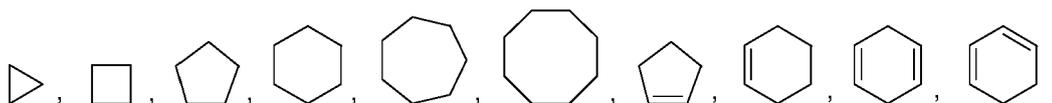
Como se usa en el presente documento, el término "alquenilo" incluye una cadena de átomos de carbono, que opcionalmente está ramificada y contiene entre 2 y 20 átomos de carbono, y también incluye al menos un doble enlace carbono-carbono (es decir, C=C). Se entenderá que en ciertas realizaciones, el alquenilo puede tener ventajosamente una longitud limitada, que incluye C₂-C₁₂, C₂-C₉, C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄. De manera ilustrativa, dichos grupos alquenilo de longitud particularmente limitada, que incluye C₂-C₈, C₂-C₇, C₂-C₆ y C₂-C₄, pueden denominarse alquenilo inferior. El alquenilo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Algunos grupos alquenilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-, 2-, o 3-butenilo, y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "alquinilo" incluye una cadena de átomos de carbono, que opcionalmente está ramificada y contiene entre 2 y 20 átomos de carbono, y también incluye al menos un triple

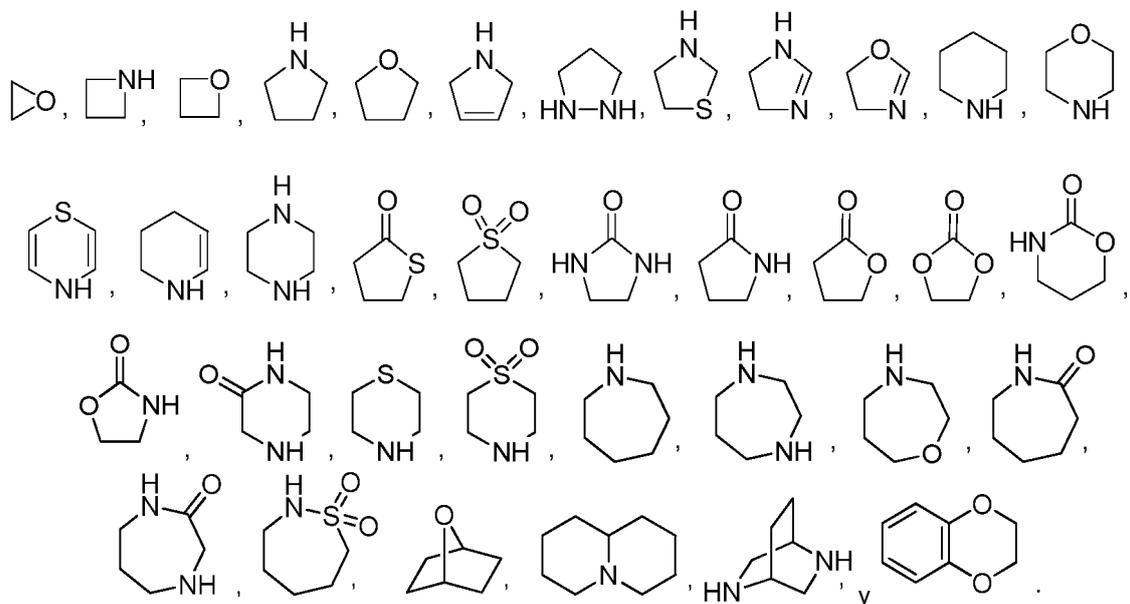
enlace carbono-carbono (es decir, $C\equiv C$). Se entenderá que en ciertas realizaciones, cada alquínulo puede tener ventajosamente una longitud limitada, que incluye C_2-C_{12} , C_2-C_9 , C_2-C_8 , C_2-C_7 , C_2-C_6 y C_2-C_4 . De manera ilustrativa, dichos grupos alquínulo de longitud particularmente limitada, que incluye C_2-C_8 , C_2-C_7 , C_2-C_6 y C_2-C_4 , pueden denominarse alquínulo inferior. El alquénulo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Algunos grupos alquénulo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-, 2- o 3-butinilo, y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a grupos monocíclicos solo de carbono o policíclicos de anillo condensado de 6 a 12 átomos de carbono que tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas realizaciones, el arilo puede tener ventajosamente un tamaño limitado, tal como arilo C_6-C_{10} . Algunos grupos arilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftalenilo y antraceno. El grupo arilo se puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo" se refiere a un anillo monocíclico solo de carbono de 3 a 15 miembros, que incluyen un grupo anular bicíclico condensado solo de carbono de 5 miembros/6 miembros o de 6 miembros/6 miembros, o un anillo condensado multicíclico (un sistema anular "condensado" significa que cada anillo del sistema comparte un par de átomos de carbono adyacentes con cada uno de los demás anillos del sistema), donde uno o más de los anillos pueden contener uno o más dobles enlaces, pero el cicloalquilo no contiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas realizaciones, el cicloalquilo puede tener ventajosamente un tamaño limitado, tal como C_3-C_{13} , C_3-C_9 , C_3-C_6 y C_4-C_6 . El cicloalquilo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Algunos grupos cicloalquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, adamantilo, norbornilo, norbornenilo, 9H-fluoren-9-ilo, y similares. Algunos ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo mostrados en representaciones gráficas incluyen las siguientes entidades, en forma de restos unidos apropiadamente:



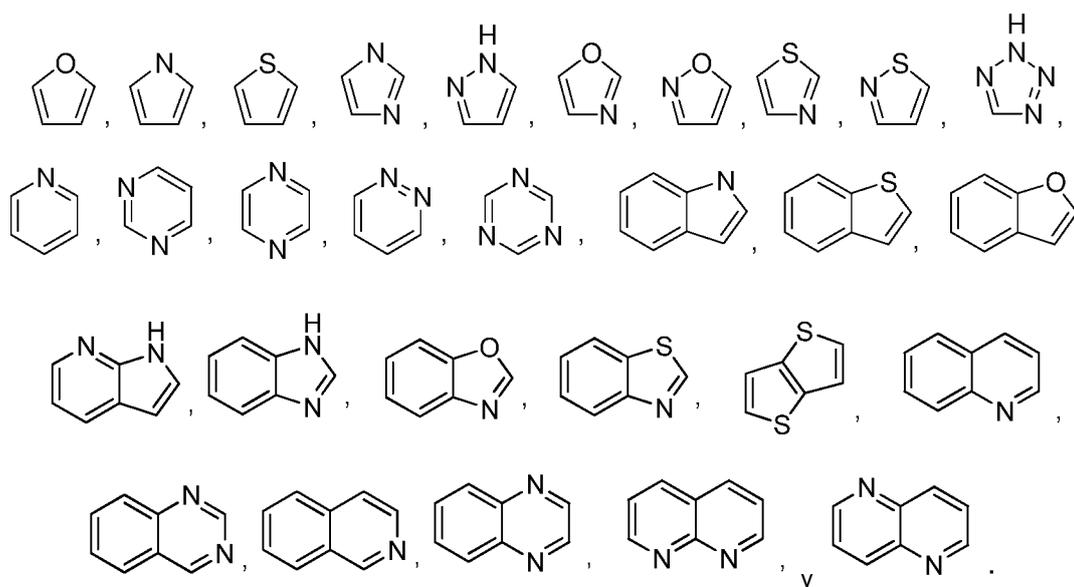
Como se usa en el presente documento, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo anular monocíclico o condensado que tiene en el o los anillos entre 3 y 12 átomos en el anillo, en el que al menos un átomo del anillo es un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, siendo el resto de los átomos del anillo átomos de carbono. El heterocicloalquilo puede contener opcionalmente 1, 2, 3 o 4 heteroátomos. El heterocicloalquilo también puede tener uno o más dobles enlaces, que incluyen dobles enlaces con nitrógeno (por ejemplo, $C=N$ o $N=N$), pero no contiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas realizaciones, el heterocicloalquilo puede tener ventajosamente un tamaño limitado, tal como heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros, y similares. El heterocicloalquilo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Algunos grupos heterocicloalquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, oxiranilo, tianarilo, azetidino, oxetanilo, tetrahidrofurano, pirrolidino, tetrahidropirano, piperidino, 1,4-dioxano, morfolino, 1,4-ditiano, piperazino, oxepano, 3,4-dihidro-2H-pirano, 5,6-dihidro-2H-pirano, 2H-pirano, 1,2,3,4-tetrahidropiridinilo, y similares. Algunos ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo mostrados en representaciones gráficas incluyen las siguientes entidades, en forma de restos unidos apropiadamente:



5

Como se usa en el presente documento, el término "heteroarilo" se refiere a un grupo anular monocíclico o condensado de 5 a 12 átomos en el anillo que contiene uno dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, siendo el resto de los átomos del anillo átomos de carbono, y teniendo también un sistema de electrones pi completamente conjugado. Se entenderá que en ciertas realizaciones, el heteroarilo puede tener ventajosamente un tamaño limitado, tal como heteroarilo de 3 a 7 miembros, heteroarilo de 5 a 7 miembros, y similares. El heteroarilo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe para alquilo o como se describe en las diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento. Algunos grupos heteroarilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, furanilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirimidinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, purinilo, tetrazolilo, triazinilo, pirazinilo, tetrazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, tienilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzisotiazolilo y carbazoloilo, y similares. Algunos ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo mostrados en representaciones gráficas incluyen las siguientes entidades, en forma de restos unidos apropiadamente:

20



25

Como se usa en el presente documento, "hidroxi" o "hidroxil" se refiere a un grupo -OH.

Como se usa en el presente documento, "alcoxi" se refiere a un grupo tanto -O-(alquil) como -O-(cicloalquil sin sustituir). Algunos ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi, y similares.

30

Como se usa en el presente documento, "ariloxi" se refiere a un grupo -O-aril u -O-heteroaril. Algunos ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, fenoxi, piridiniloxi, furaniloxi, tieniloxi, pirimidiniloxi, piraziniloxi, y similares, y similares.

5 Como se usa en el presente documento, "mercapto" se refiere a un grupo -SH.

Como se usa en el presente documento, "alcoxi" se refiere a un grupo -S-(alquil) o -S-(cicloalquil sin sustituir). Algunos ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio, ciclopropiltio, ciclobutiltio, ciclopentiltio, ciclohexiltio, y similares.

10 Como se usa en el presente documento, "ariltio" se refiere a un grupo -S-aril o -S-heteroaril. Algunos ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, feniltio, piridiniltio, furaniltio, tieniltio, pirimidiniltio, y similares.

15 Como se usa en el presente documento, "halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Como se usa en el presente documento, "ciano" se refiere a un grupo -CN.

20 El término "oxo" representa un oxígeno de carbonilo. Por ejemplo, un ciclopentilo sustituido con oxo es ciclopentanona.

25 El término "sustituido" significa que el grupo o resto especificado porta uno o más sustituyentes. El término "sin sustituir" significa que el grupo especificado no porta sustituyentes. Cuando se usa el término "sustituido" para describir un sistema estructural, se entiende que la sustitución se produce en cualquier posición del sistema permitida por la valencia. En algunas realizaciones, "sustituido" significa que el grupo o resto especificado porta uno, dos o tres sustituyentes. En otras realizaciones, "sustituido" significa que el grupo o resto especificado porta uno o dos sustituyentes. En otras realizaciones más, "sustituido" significa el grupo o resto especificado porta un sustituyente.

30 Como se usa en el presente documento, "opcional" u "opcionalmente" significa que el acontecimiento o circunstancia descrito posteriormente puede producirse, aunque no necesariamente, y que la descripción incluye los casos en los que el acontecimiento o la circunstancia se produce y los casos en los que no. Por ejemplo, "en donde cada átomo de hidrógeno de alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está independientemente opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆" significa que un alquilo puede estar, aunque no necesariamente, presente en cualquiera de los alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico mediante la sustitución de un átomo de hidrógeno en cada grupo alquilo, y la descripción incluye las situaciones en las que los alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico está sustituido con un grupo alquilo, y las situaciones en las que los alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros, arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo mono- o bicíclico no está sustituido con el grupo alquilo.

45 Como se usa en el presente documento, "independientemente" significa que el acontecimiento o circunstancia descrito posteriormente debe leerse por sí mismo o respecto a otros acontecimientos o circunstancias similares. Por ejemplo, en una circunstancia en la que varios grupos hidrógeno equivalentes están opcionalmente sustituidos por otro grupo descrito la circunstancia, el uso de "independientemente opcionalmente" significa que cada caso de un átomo de hidrógeno del grupo puede estar sustituido por otro grupo, donde los grupos que sustituyen cada uno de los átomos de hidrógeno pueden ser iguales o diferentes. O por ejemplo, donde existen múltiples grupos, todos los cuales pueden ser seleccionados de un conjunto de posibilidades, el uso de "independientemente" significa que cada uno de los grupos puede ser seleccionado del conjunto de posibilidades por separado con respecto a cualquier otro grupo, y los grupos seleccionados en la circunstancia pueden ser iguales o diferentes.

50 Como se usa en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales cuyos contraiones pueden usarse en productos farmacéuticos. Véase, generalmente, S.M. Berge, *et al.*, "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son aquellas que son farmacológicamente eficaces y adecuadas para el contacto con los tejidos de los sujetos sin una excesiva toxicidad, irritación o respuesta alérgica. Un compuesto descrito en el presente documento puede poseer un grupo lo suficientemente ácido, un grupo lo suficientemente básico, ambos tipos de grupos funcionales o más de uno de cada tipo, y reaccionar consecuentemente con diversas bases inorgánicas u orgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable. Dichas sales incluyen:

60 (1) sales de adición ácida, que pueden obtenerse mediante la reacción de la base libre del compuesto parental con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, y similares, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido (D) o (L) málico, ácido maleico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, y similares; o

(2) las sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental es sustituido por un ión metálico, por ejemplo, un ión de un metal alcalino, un ión de un metal alcalinotérreo o un ión de aluminio; o coordinados con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trimetamina, N-metilglucamina, y similares.

5 Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas por los expertos en la técnica, y puede contemplarse cualquiera de dichas sales farmacéuticamente aceptables en relación con las realizaciones descritas en el presente documento. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butino-1,4-dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, metilsulfonatos, propilsulfonatos, besilatos, xilensulfonatos, naftalen-1-sulfonatos, naftalen-2-sulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos y mandelatos. Las listas de otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985.

Para un compuesto de Fórmula I que contiene un nitrógeno básico, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse mediante cualquier método adecuado disponible en la técnica, por ejemplo, tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico, y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido fenilacético, ácido propiónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido isetiónico, ácido succínico, ácido valérico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido láurico, un ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxiácido, tal como ácido mandélico, ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático, tal como ácido benzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido naftoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido laurilsulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido metansulfónico o ácido etansulfónico, o cualquier mezcla compatible de ácidos tales como los proporcionados como ejemplos en el presente documento, y cualquier otro ácido y mezcla de los mismos que se consideren sustitutos equivalentes o aceptables a la luz del nivel de pericia habitual en esta tecnología.

La divulgación también se refiere a profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I, y a métodos de tratamiento que emplean dichos profármacos farmacéuticamente aceptables. El término "profármaco" significa un precursor de un compuesto designado que, después de su administración a un sujeto, produce el compuesto *in vivo* a través de un proceso químico o fisiológico tal como una solvolisis o una escisión enzimática, o en condiciones fisiológicas (por ejemplo, un profármaco que se lleva a pH fisiológico se convierte en el compuesto de Fórmula I). Un "profármaco farmacéuticamente aceptable" es un profármaco que no es tóxico, que es biológicamente tolerable y de otro modo biológicamente adecuado para su administración al sujeto. Algunos procedimientos ilustrativos para la selección y la preparación de derivados de profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

La presente divulgación también se refiere a metabolitos farmacéuticamente activos de los compuestos de Fórmula I, y a los usos de dichos metabolitos en los métodos de la divulgación. Un "metabolito farmacéuticamente activo" significa un producto del metabolismo farmacológicamente activo en el cuerpo de un compuesto de Fórmula I o de una sal del mismo. Los profármacos y los metabolitos activos de un compuesto pueden determinarse usando las técnicas rutinarias conocidas o disponibles en la técnica. Véase, por ejemplo, Bertolini *et al.*, J. Med. Chem. 1997, 40, 2011-2016; Shan *et al.*, J. Pharm. Sci. 1997, 86 (7), 765-767; Bagshawe, Drug Dev. Res. 1995, 34, 220-230; Bodor, Adv. Drug Res. 1984, 13, 255-331; Bundgaard, Design of Prodrugs (Elsevier Press, 1985); y Larsen, Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen *et al.*, eds., Harwood Academic Publishers, 1991).

Se pretende que cualquier fórmula representada en el presente documento represente un compuesto de esa fórmula estructural, así como ciertas variaciones o formas. Por ejemplo, se pretende que una fórmula proporcionada en el presente documento incluya una forma racémica o uno o más isómeros enantioméricos, diastereoméricos o geométricos, o una mezcla de los mismos. Adicionalmente, se pretende que una fórmula proporcionada en el presente documento se refiera también a un hidrato, un solvato o un polimorfo de dicho compuesto, o una mezcla de los mismos.

Como se usa en el presente documento, el término "alterado genéticamente" se refiere a una alteración permanente en la secuencia de ADN que forma un gen, que puede dar como resultado un cambio en la secuencia de la proteína codificada por el gen. Un gen que está "alterado genéticamente" como se describe en el presente documento puede poseer cambios en la secuencia de ADN y/o en la secuencia de la proteína codificada por la secuencia de ADN, de un tamaño variable; por ejemplo, un único nucleótido (también conocido como polimorfismo de nucleótido individual, SNP o mutación puntual), un polimorfismo de múltiples nucleótidos (MNP), un gran segmento de un cromosoma que incluye múltiples genes, tales como una fusión génica, y similares. Algunos ejemplos de fusiones génicas incluyen, pero no se limitan a, aquellas que son el resultado de una inversión cromosómica en la que una porción de un ADN cromosómico que codifica uno o más genes se reordena para proporcionar la fusión de dos genes que normalmente

no están en comunicación en la secuencia de ADN, tales como EML4-ALK (véase, por ejemplo, Soda, M. *et al.*, Nature, 2007, 448, 561-567), aquellas que son el resultado de una deleción en la secuencia de ADN (una "deleción intersticial") en las que parte de una secuencia de ADN de un cromosoma es delecionada para proporcionar la fusión de dos genes que normalmente no están en comunicación en la secuencia de ADN, tales como TMRSS2-ERG (véase, por ejemplo, Yu J. *et al.*, Cancer Cell, 2010, 17, 5, 443-54), o aquellas que son el resultado de una translocación en las que una porción de ADN cromosómico cortado y empalmado se inserta en el mismo cromosoma o en uno diferente para proporcionar la fusión de dos genes que normalmente no están en comunicación en la secuencia de ADN, tales como BCR-ABL (véase, por ejemplo, Advani, A.S. *et al.* Leukemia Research, 2002, 26, 8, 713-720). El experto en la técnica apreciará fácilmente que dichas fusiones génicas pueden encontrarse en múltiples variantes dependiendo del individuo en el que se haya producido la fusión génica, y cada una de dichas variantes está contemplada por los métodos descritos en el presente documento.

Un gen "alterado genéticamente", o la proteína codificada por dicho gen, puede aparecer como mutaciones hereditarias que pueden ser heredadas de un progenitor, y a menudo se denominan mutaciones hereditarias, o un gen "alterado genéticamente", o la proteína codificada por dicho gen, puede aparecer como una mutación adquirida (o somática) que se produce en algún momento durante la vida de una persona. En algunos casos, un gen "alterado genéticamente" puede describirse como una mutación *de novo* (nueva), y puede ser hereditaria o somática. Además, se entenderá que "alterado genéticamente" puede referirse a una situación en la que puede producirse simultáneamente en un paciente más de uno de los cambios en la secuencia de ADN descritos en el presente documento, tales como una SNP (o mutación puntual) y una translocación. Dichas situaciones pueden producirse a partir de, pero no son únicamente el resultado de, le denominada "resistencia adquirida", en la que un paciente que ha sido tratado con un inhibidor de la cinasa puede desarrollar una mutación en la secuencia de ADN que reduce la eficacia del tratamiento. Algunos ejemplos no limitantes de dichas mutaciones por resistencia adquirida incluyen la mutación puntual L1196M, G1202R, L1152P, F1174C, C1156Y, I1171N, G1269S, y la inserción 1151T que se produce en la fusión génica EML4-ALK.

Como se usa en el presente documento, el término "resistencia intrínseca" se refiere a la resistencia preexistente de las células patológicas, especialmente de las células cancerosas, frente al tratamiento farmacológico, especialmente la quimioterapia. Se apreciará que la resistencia intrínseca puede dar como resultado la resistencia de las células a un único fármaco, a un pequeño grupo de fármacos relacionados estructuralmente o a varios fármacos con una estructura química diferente (la denominada "resistencia multifarmacológica" o "MDR"). (Monti, E. 2007. Molecular Determinants of Intrinsic Multidrug Resistance in Cancer Cells and Tumors In B. Teicher (Ed.), Cancer Drug Resistance (págs. 241-260). Totowa, Nueva Jersey: Humana Press Inc.). Se apreciará que la resistencia intrínseca puede ser el resultado de uno o más factores relacionados con el hospedador y/o de la constitución genética de las células. Dichos factores incluyen, pero no se limitan a, inmunomodulación; factores farmacogenéticos tales como la incapacidad para conseguir unos niveles séricos óptimos del fármaco debido a una farmacocinética alterada o a una baja tolerancia a los efectos secundarios inducidos por el fármaco; un acceso restringido del fármaco al sitio del tumor; y desencadenantes micromedioambientales. Dichos factores de constitución genética incluyen, pero no se limitan a, una expresión alterada de los transportadores del fármaco; alteraciones cualitativas del objetivo u objetivos del fármaco; alteraciones cuantitativas del objetivo u objetivos del fármaco; cambios en la manipulación/metabolismo intracelular del fármaco; cambios en las actividades de reparación del ADN y una alteración en las rutas apoptóticas. (Gottesman, M.M., Annu. Rev. Med., 2002, 53, 516-527).

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a aquella cantidad de compuesto activo o de agente farmacéutico que desencadena la respuesta biológica o medicinal en un paciente, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o el trastorno que se está tratando. En un aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz es aquella que puede tratar o aliviar la enfermedad o los síntomas. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente en particular dependerá de diversos factores, que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el género y la dieta del paciente; la momento de la administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico empleado; y factores similares. Un ejemplo de dosis está en el intervalo de aproximadamente entre aproximadamente 0,1 mg y 1 g al día, o entre aproximadamente 1 mg y 50 mg al día, o entre aproximadamente 50 y 250 mg al día, o entre aproximadamente 250 mg y 1 g al día. La dosis total puede ser administrada en una única dosis o en dosis divididas (por ejemplo, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día).

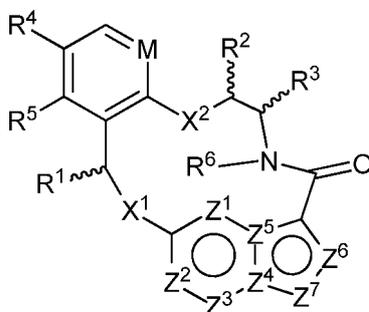
Como se usa en el presente documento, el término "enfermedad" incluye, pero no se limita a, cáncer, dolor, psoriasis, artritis reumatoide, policitemia vera, trombocitemia esencial, colitis ulcerosa y metaplasia mieloide con mielofibrosis.

Como se usa en el presente documento, el término "cáncer" incluye, pero no se limita a, ALCL, NSCLC, neuroblastoma, tumor miofibroblástico inflamatorio, carcinoma de células renales en el adulto, carcinoma de células renales pediátrico, cáncer de mama, cáncer de mama ER+, adenocarcinoma de colon, glioblastoma, glioblastoma multiforme, cáncer de tiroides anaplásico, colangiocarcinoma, cáncer de ovario, adenocarcinoma gástrico, cáncer

colorrectal, tumor miofibroblástico inflamatorio, angiosarcoma, hemangioendotelioma epiteliode, colangiocarcinoma intrahepático, cáncer papilar tiroideo, neoplasmas spitzoides, sarcoma, astrocitoma, glioma cerebral bien diferenciado, carcinoma de mama secretor, carcinoma análogo mamario, leucemia mieloide aguda, nefroma mesoblástico congénito, fibrosarcomas congénitos, leucemia linfoblástica aguda con pseudotranslocación Filadelfia, carcinoma de tiroides, melanoma cutáneo, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, glioma en la CML pediátrica, cáncer de próstata, carcinoma epidermoide pulmonar, adenocarcinoma quístico seroso ovárico, melanoma cutáneo, cáncer de próstata resistente a la castración, linfoma de Hodgkin y cáncer de endometrio seroso y de células claras.

Realizaciones

En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se refieren al tratamiento de una enfermedad que comprende la administración a un paciente que necesita tratamiento de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene actividad frente a, al menos una, tirosina cinasa seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRK, JAK y SRC. En algunas realizaciones, el compuesto tiene actividad frente a, al menos, una tirosina o serina/treonina cinasa seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC, JAK2, SRC, FAK y ARK5. En algunas realizaciones, el compuesto tiene actividad frente a, al menos, dos tirosina o serina/treonina cinasas seleccionadas del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC, JAK2, SRC, FAK y ARK5. En algunas realizaciones, la al menos una, o las al menos dos de la tirosina o la serina/treonina cinasas están alteradas genéticamente. En algunas realizaciones, el compuesto es de la fórmula I



I

en donde X^1 , X^2 , Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 , Z^5 , Z^6 , Z^7 , M , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 se definen como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se apreciará que la enfermedad puede ser cualquiera de las diversas enfermedades asociadas con las tirosina·cinasas descritas en el presente documento frente a las cuales tienen actividad los compuestos de la fórmula I. Por ejemplo, los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para el tratamiento de enfermedades tales como cáncer, dolor, psoriasis, artritis reumatoide, policitemia vera, trombocitemia esencial, colitis ulcerosa, metaplasia mieloide con mielofibrosis, y similares. Se apreciará que la enfermedad puede ser cualquier enfermedad asociada con actividad de una tirosina·cinasa descrita en el presente documento. Se apreciará además que la enfermedad puede ser cualquier enfermedad asociada con una tirosina o serina/treonina·cinasa alterada genéticamente seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC, JAK2, SRC, FAK y ARK5. Se apreciará además que la enfermedad puede ser cualquier enfermedad asociada con la regulación por aumento de la JAK2, la SRC, la FAK o el ARK5. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una tirosina·cinasa. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una serina/treonina·cinasa. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una tirosina·cinasa alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una serina/treonina·cinasa alterada genéticamente. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con la regulación por aumento de la JAK2, la SRC, la FAK o el ARK5. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una tirosina·cinasa alterada genéticamente seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC, JAK2, SRC y FAK. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer mediado por o asociado con una serina/treonina·cinasa alterada genéticamente, tal como ARK5.

Se apreciará que el cáncer puede ser cualquier cáncer mediado por o asociado con una tirosina·cinasa alterada genéticamente seleccionada del grupo que consiste en ALK, ROS1, TRKA, TRKB, TRKC y JAK2, o la regulación por aumento de la JAK2, la SRC, la FAK o el ARK5, incluyendo, pero sin limitación, ALCL, NSCLC, neuroblastoma, tumor miofibroblástico inflamatorio, carcinoma de células renales en el adulto, carcinoma de células renales pediátrico, cáncer de mama, adenocarcinoma de colon, glioblastoma, glioblastoma multiforme, cáncer de tiroides anaplásico, colangiocarcinoma, cáncer de ovario, adenocarcinoma gástrico, cáncer colorrectal, tumor miofibroblástico inflamatorio, angiosarcoma, hemangioendotelioma epiteliode, colangiocarcinoma intrahepático, cáncer papilar tiroideo, neoplasmas spitzoides, sarcoma, astrocitoma, glioma cerebral bien diferenciado, carcinoma

de mama secretor, carcinoma análogo mamario, leucemia mieloide aguda, nefroma mesoblástico congénito, fibrosarcomas congénitos, leucemia linfoblástica aguda con pseudotranslocación Filadelfia, carcinoma de tiroides, melanoma cutáneo, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, glioma en la CML pediátrica y cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el cáncer es NSCLC. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer colorrectal. En algunas realizaciones, el cáncer es neuroblastoma.

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento de una enfermedad en un paciente que ha recibido un tratamiento previo con uno o más agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, el paciente ha sido tratado previamente con uno o más agentes quimioterápicos. En otras realizaciones más, el paciente ha sido tratado previamente con uno o más agentes quimioterápicos y ha desarrollado una resistencia adquirida al tratamiento. En otras realizaciones más, el paciente ha sido tratado previamente con uno o más agentes quimioterápicos y ha desarrollado una resistencia por resistencia al tratamiento. En otras realizaciones más, el paciente ha sido tratado previamente con uno o más agentes quimioterápicos y ha desarrollado una resistencia por resistencia al tratamiento regulada por la SRC o la JAK2.

Otros agentes quimioterápicos con los que el paciente puede haber sido tratado antes del tratamiento con uno o más de los compuestos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la cinasa, adrenocorticoides y corticosteroides, agentes alquilantes, inhibidores peptídicos y peptidomiméticos de la transducción de señales, antiandrógenos, antiestrógenos, andrógenos, aclamicina y derivados de aclamicina, estrógenos, antimetabolitos, compuestos de platino, amanitinas, alcaloides vegetales, mitomicinas, discodermolida, inhibidores de los microtúbulos, epotilonas, agentes inflamatorios y proinflamatorios, análogos de purina, análogos de pirimidina, camptotecinas y dolastatinas. En algunas realizaciones, el agente quimioterápico que recibió el paciente antes del tratamiento con uno o más compuestos descritos en el presente documento puede ser uno o más de afatinib, axitinib, alectinib, bosutinib, brigatini, cabozantinib, ceritinib, crizotinib, dabrefenib, dasatinib, erlotinib, everólimus, gefitinib, ibrutinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, nilotinib, nintedanib, palbociclib, pazopanib, ponatinib, regorafenib, ruxolitinib, sirólimus, sorafenib, sunitinib, tofacitinib, temsirólimus, trametinib, vandetanib, vemurafenib, metotrexato, busulfano, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, tamoxifeno, taxol, paclitaxel, docetaxel, arabinósido de citosina, ciclofosfamida, daunomicina, rizoxina, prednisona, hidroxurea, tenipósido, vincristina, vinblastina, eribulina, camptotecina, irinotecán, geldanamicina, estramustina y nocodazol. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento proporcionan el tratamiento de un paciente previamente tratado con un inhibidor de la cinasa seleccionado del grupo que consiste en afatinib, alectinib, axitinib, bosutinib, brigatini, cabozantinib, ceritinib, crizotinib, dabrefenib, dasatinib, erlotinib, everólimus, gefitinib, ibrutinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, nilotinib, nintedanib, palbociclib, pazopanib, ponatinib, regorafenib, ruxolitinib, sirólimus, sorafenib, sunitinib, tofacitinib, temsirólimus, trametinib, vandetanib y vemurafenib. En algunas realizaciones, el paciente se trató previamente con crizotinib.

Composiciones farmacéuticas

Para los fines de tratamiento, las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos descritos en el presente documento pueden comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Un excipiente farmacéuticamente aceptable es una sustancia que no es tóxica y que por lo demás es biológicamente adecuada para su administración a un sujeto. Dichos excipientes facilitan la administración de los compuestos descritos en el presente documento y son compatibles con el principio activo. Algunos ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen estabilizantes, lubricantes, tensioactivos, diluyentes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes, agentes de carga, emulsionantes o agentes modificadores del sabor. En algunas realizaciones preferidas, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son composiciones estériles. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse usando las técnicas de preparación conocidas o que están disponibles para los expertos en la técnica.

La invención también contempla composiciones estériles, que incluyen composiciones que son conformes con las normativas nacionales y locales para dichas composiciones.

Las composiciones y compuestos farmacéuticos descritos en el presente documento pueden formularse como soluciones, emulsiones, suspensiones o dispersiones en disolventes o portadores farmacéuticos adecuados, o como píldoras, comprimidos, tabletas, supositorios, sobres, grageas, gránulos, polvos, polvos para reconstitución o cápsulas, junto con portadores sólidos de acuerdo con los métodos convencionales conocidos en la técnica para la preparación de diversas formas de dosificación. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas a través de una vía de administración adecuada, tal como la vía oral, parenteral, rectal, nasal, tópica u ocular, o por inhalación. Preferentemente, las composiciones se formulan para una administración intravenosa u oral.

Para la administración oral, los compuestos la invención pueden proporcionarse en una forma sólida, tal como un comprimido o una cápsula, o como una solución, una emulsión o una suspensión. Para preparar las composiciones orales, los compuestos de la invención pueden formularse para producir una dosis de, por ejemplo, entre aproximadamente 0,1 mg y 1 g al día, o entre aproximadamente 1 mg y 50 mg al día, o entre aproximadamente 50 y 250 mg al día, o entre aproximadamente 250 mg y 1 g al día. Los comprimidos orales pueden incluir el o los

principios activos mezclados con excipientes compatibles farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Algunos agentes de relleno inertes incluyen carbonato de sodio y de calcio, fosfato de sodio y de calcio, lactosa, almidón, azúcar, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol, y similares. Algunos ejemplos de excipientes orales líquidos incluyen etanol, glicerol, agua, y similares. Almidón, polivinilpirrolidona (PVP), glicolato sódico de almidón, celulosa microcristalina y ácido algínico son algunos ejemplos de agentes disgregantes. Algunos agentes aglutinantes incluyen almidón y gelatina. El agente lubricante, si está presente, puede ser estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden estar recubiertos con materiales tales como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para retardar la absorción en el tracto gastrointestinal, o pueden estar recubiertos con un recubrimiento entérico.

Las cápsulas para administración oral incluyen cápsulas de gelatina dura y blanda. Para preparar cápsulas de gelatina dura, el o los principios activos pueden mezclarse con un diluyente sólido, semisólido o líquido. Las cápsulas de gelatina blanda pueden prepararse mezclando el principio activo con agua, un aceite, tal como aceite de cacahuete o aceite de oliva, parafina líquida, una mezcla de mono y diglicéridos de ácidos grasos de cadena corta, polietilenglicol 400 o propilenglicol.

Los líquidos para administración oral pueden estar en forma de suspensiones, soluciones, emulsiones o jarabes, o pueden estar liofilizados o presentados como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas composiciones líquidas pueden contener opcionalmente: excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes suspensores (por ejemplo, sorbitol, metilcelulosa, alginato de sodio, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio y similares); vehículos no acuosos, por ejemplo, aceite (por ejemplo, aceite de almendra o aceite de coco fraccionado), propilenglicol, alcohol etílico o agua; conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo o de propilo o ácido sórbico.); agentes humectantes tales como lecitina; y, si se desea, agentes aromatizantes o colorantes.

Para un uso parenteral, que incluye las vías intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal o subcutánea, los agentes de la invención pueden proporcionarse en soluciones o suspensiones acuosas estériles, tamponados a un pH e isotonicidad apropiados o en un aceite parenteralmente aceptable. Algunos vehículos acuosos adecuados incluyen solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico. Dichas formas pueden presentarse en una forma unidosis, tales como ampollas o dispositivos de inyección desechables, en formas multidosis tales como viales a partir de los cuales puede extraerse la dosis apropiada, o en una forma sólida o previamente concentrada que puede usarse para preparar una formulación inyectable. Las dosis de infusión ilustrativas varían entre aproximadamente 1 y 1000 µg/kg/minuto de agente mezclado con un portador farmacéutico durante un periodo que varía desde varios minutos hasta varios días.

Para una administración nasal, inhalada u oral, las composiciones farmacéuticas inyectivas pueden administrarse usando, por ejemplo, una formulación en aerosol que también contiene un portador adecuado. Las composiciones inventivas puede formularse para su administración rectal como un supositorio.

Para las aplicaciones tópicas, los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como cremas o ungüentos o un vehículo similar adecuado para la administración tópica. Para la administración tópica, los compuestos inventivos pueden mezclarse con un portador farmacéutico a una concentración de entre aproximadamente el 0,1 % y aproximadamente el 10 % de fármaco con respecto al vehículo. Otro modo de administración de los agentes de la invención puede utilizar una formulación en parche para efectuar una administración transdérmica.

Cualquier fórmula proporcionada en el presente documento también pretende representar las formas no marcadas, así como las formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen las estructuras representadas por las fórmulas proporcionadas en el presente documento excepto porque uno o más átomos están sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico seleccionado. Algunos ejemplos de isótopos que pueden ser incorporados en los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl y ^{125}I , respectivamente. Dichos compuestos marcados isotópicamente son útiles en los estudios metabólicos (preferentemente con ^{14}C), en estudios de cinéticas de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), en técnicas de detección o de obtención de imágenes [tales como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía de emisión monofotónica (SPECT)], incluyendo ensayos de distribución en tejidos de sustrato o de fármaco, o en el tratamiento radioactivo de pacientes. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio (es decir, ^2H), pueden proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una semivida *in vivo* aumentada o unos requisitos de dosis reducidos. Los compuestos marcados isotópicamente de esta divulgación y los profármacos de los mismos generalmente pueden prepararse llevando a cabo los procedimientos divulgados en los esquemas o en los ejemplos y en las preparaciones descritas a continuación, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente.

Combinaciones de fármacos

Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en composiciones o en métodos farmacéuticos en combinación con uno o más principios activos adicionales en el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos en el presente documento. Algunos principios activos adicionales incluyen otros productos o agentes terapéuticos que mitigan los efectos adversos de las terapias para los objetivos patológicos previstos. Dichas combinaciones pueden servir para aumentar la eficacia, mejorar otros síntomas de la enfermedad, reducir uno o más efectos secundarios o reducir la dosis necesaria de un compuesto inventivo. Los principios activos adicionales pueden ser administrados en una composición farmacéutica aparte de un compuesto de la presente invención, o pueden estar incluidos con un compuesto de la presente invención en una única composición farmacéutica. Los principios activos adicionales pueden ser administrados simultáneamente con, antes o después de la administración de un compuesto de la presente invención.

Algunos agentes de combinación que incluyen principios activos adicionales son aquellos que son conocidos o descubiertos como eficaces en el tratamiento de las enfermedades y trastornos descritos en el presente documento, incluyendo aquellos activos contra otro objetivo asociado con la enfermedad. Por ejemplo, las composiciones y las formulaciones de la invención, así como los métodos de tratamiento, pueden comprender además otros fármacos o productos farmacéuticos, por ejemplo, otros agentes activos útiles para tratar o paliar las enfermedades objetivo o los síntomas o las afecciones relacionadas.

Otros agentes quimioterápicos adecuados para su uso en combinación con los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la cinasa, adrenocorticoides y corticosteroides, agentes alquilantes, inhibidores peptídicos y peptidomiméticos de la transducción de señales, antiandrógenos, antiestrógenos, andrógenos, aclamicina y derivados de aclamicina, estrógenos, antimetabolitos, compuestos de platino, amanitinas, alcaloides vegetales, mitomicinas, discodermolida, inhibidores de los microtúbulos, epotilonas, agentes inflamatorios y proinflamatorios, análogos de purina, análogos de pirimidina, camptotecinas y dolastatinas. En algunas realizaciones, los agentes quimioterápicos adecuados para los tratamientos de combinación en los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, uno o más de afatinib, alectinib, axitinib, bosutinib, brigatini, cabozantinib, ceritinib, crizotinib, dabrefenib, dasatinib, erlotinib, everólimus, gefitinib, ibrutinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, nilotinib, nintedanib, palbociclib, pazopanib, ponatinib, regorafenib, ruxolitinib, sirólimus, sorafenib, sunitinib, tofacitinib, temsirólimus, trametinib, vandetanib, vemurafenib, metotrexato, busulfano, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, tamoxifeno, taxol, paclitaxel, docetaxel, arabinósido de citosina, ciclofosfamida, daunomicina, rizoxina, prednisona, hidroxiaurea, tenipósido, vincristina, vinblastina, eribulina, camptotecina, irinotecán, geldanamicina, estramustina y nocodazol. Los agentes quimioterápicos adecuados para los tratamientos de combinación en los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, uno o más inhibidores de la cinasa seleccionados del grupo que consiste de afatinib, alectinib, axitinib, bosutinib, brigatini, cabozantinib, ceritinib, crizotinib, dabrefenib, dasatinib, erlotinib, everólimus, gefitinib, imatinib, lapatinib, lenvatinib, nilotinib, nintedanib, palbociclib, pazopanib, ponatinib, regorafenib, ruxolitinib, sirólimus, sorafenib, sunitinib, tofacitinib, temsirólimus, trametinib, vandetanib y vemurafenib. En algunas realizaciones, el paciente se trató previamente con crizotinib. Para indicaciones álgicas, algunos agentes de combinación adecuados incluyen antiinflamatorios tales como AINE. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender además uno o más de dichos agentes activos, y los métodos de tratamiento pueden comprender adicionalmente la administración de una cantidad eficaz de uno o más de dichos agentes activos.

Pruebas diagnósticas

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento de una enfermedad en un paciente en el que previamente se ha identificado que tiene una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente, tales como una fusión génica. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento del cáncer en un paciente en el que previamente se ha identificado que tiene una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente, tales como una fusión génica. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento de una enfermedad en un paciente que comprende (i) identificar una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente en el paciente, y (ii) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto útil en el tratamiento de dicha enfermedad.

Se apreciará que el diagnóstico o la identificación de un paciente que tiene una tirosina o una serina treonina-cinasa alterada genéticamente puede llevarse a cabo mediante diversas pruebas diagnósticas conocidas por el experto en la técnica. Por ejemplo, dichas pruebas diagnósticas incluyen, pero no se limitan a, hibridación fluorescente *in situ* (FISH), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), inmunohistoquímica (IHC), secuenciación del genoma completo, secuenciación de última generación, y similares. También se apreciará que cualquiera de los métodos conocidos en la técnica y aplicables al diagnóstico o la identificación de un paciente en relación con la presente divulgación implican la transformación de una muestra biológica desde un estado de

la materia a otro mediante una modificación directa, una síntesis o mediante una conexión directa no covalente para proporcionar una muestra modificada que puede usarse para determinar si el sujeto tiene o no una tirosina o una serina treonina-cinasa alterada genéticamente. En algunas realizaciones, "diagnosticar" o "identificar" con respecto al estado patológico de un paciente significa aplicar una prueba diagnóstica, tal como FISH, PCR o IHC, a una

muestra biológica obtenida del paciente.

Se apreciará que la FISH es una prueba que "cartografía" el material genético de las células de una persona. Esta prueba puede usarse para visualizar genes específicos o porciones de genes. La FISH es una técnica citogenética que usa sondas fluorescentes que se unen únicamente a aquellas partes del cromosoma con un alto grado de complementariedad en la secuencia. Dichas pruebas FISH pueden usarse para identificar un paciente con una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente mediante cualquier método conocido en la técnica, y dicha prueba puede usarse en combinación con los métodos descritos en el presente documento tanto como un medio de identificación previa de un paciente para un tratamiento como para la identificación simultánea de un paciente para un tratamiento.

Se apreciará que IHC se refiere al proceso de detección de antígenos (por ejemplo, proteínas) en las células de una sección tisular mediante la explotación del principio de unión específica de los anticuerpos a los antígenos en tejidos biológicos. La tinción inmunohistoquímica se usa ampliamente en el diagnóstico de células anormales, tales como las que se encuentran en los tumores cancerosos. Algunos marcadores moleculares específicos son característicos de acontecimientos celulares en particular, tales como la proliferación o la muerte celular (apoptosis). La visualización de una interacción anticuerpo-antígeno puede llevarse a cabo de diversas formas. En el caso más habitual, se conjuga un anticuerpo con una enzima, tal como peroxidasa, que puede catalizar una reacción colorimétrica. Alternativamente, el anticuerpo también puede estar marcado con un fluoróforo, tal como fluoresceína o rodamina. Dichas pruebas IHC pueden usarse para identificar un paciente con una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente mediante cualquier método conocido en la técnica, y dicha prueba puede usarse en combinación con los métodos descritos en el presente documento tanto como un medio de identificación previa de un paciente para un tratamiento como para la identificación simultánea de un paciente para un tratamiento.

Se apreciará que PCR se refiere a una tecnología de la biología molecular usada para amplificar una única copia o unas pocas copias de un fragmento de ADN a través de varios órdenes de magnitud, generando entre miles y millones de copias de una secuencia de ADN en particular. Dichas pruebas PCR pueden usarse para identificar un paciente con una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente mediante cualquier método conocido en la técnica, y dicha prueba puede usarse en combinación con los métodos descritos en el presente documento tanto como un medio de identificación previa de un paciente para un tratamiento como para la identificación simultánea de un paciente para un tratamiento.

Se apreciará que la secuenciación del genoma completo o secuenciación de última generación se refiere a un proceso que determina la secuencia completa del ADN del genoma de un organismo de una sola vez. Esto implica la secuenciación de todo el ADN cromosómico de un organismo, así como el ADN contenido en las mitocondrias. Dichas pruebas de secuenciación del genoma completo pueden usarse para identificar un paciente con una tirosina o serina/treonina-cinasa alterada genéticamente mediante cualquier método conocido en la técnica, y dicha prueba puede usarse en combinación con los métodos descritos en el presente documento tanto como un medio de identificación previa de un paciente para un tratamiento como para la identificación simultánea de un paciente para un tratamiento.

EJEMPLOS

Los ejemplos y preparaciones proporcionados a continuación ilustran y ejemplifican adicionalmente algunos aspectos en particular de las realizaciones de la divulgación. Debe entenderse que el alcance de la presente divulgación no está limitado en modo alguno por el alcance de los siguientes ejemplos.

Abreviaturas

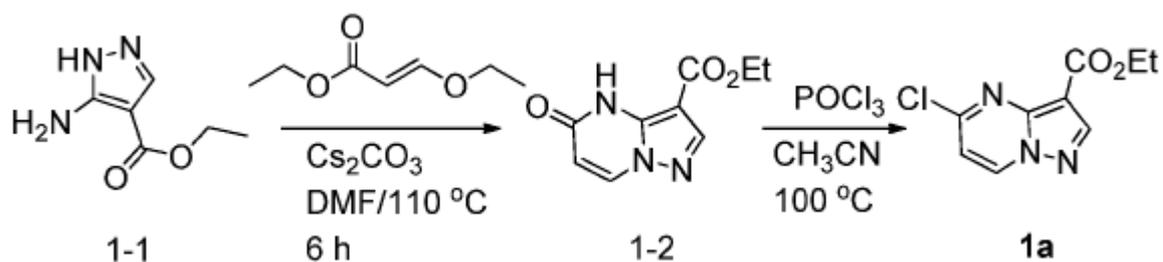
Los ejemplos descritos en el presente documento usan materiales que incluyen, pero no se limitan a, los descritos por las siguientes abreviaturas conocidas por los expertos en la técnica:

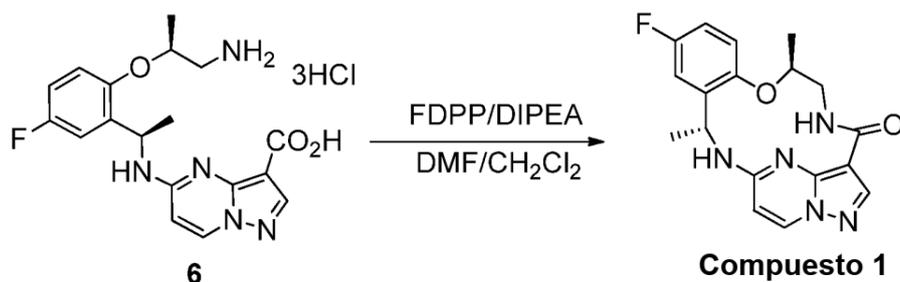
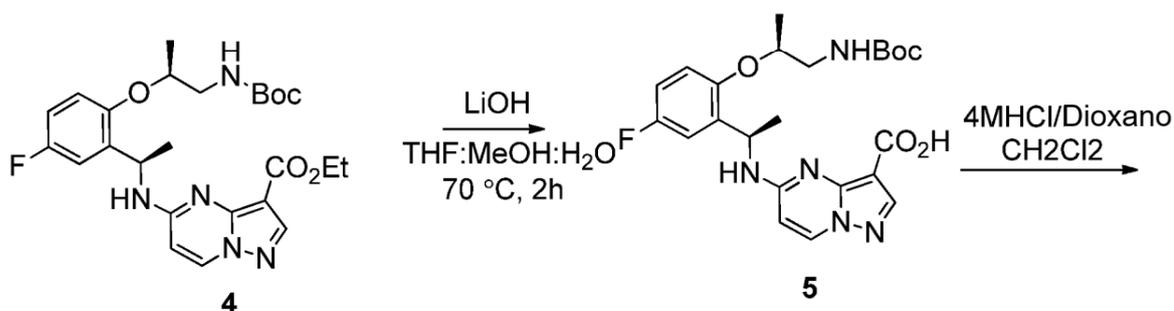
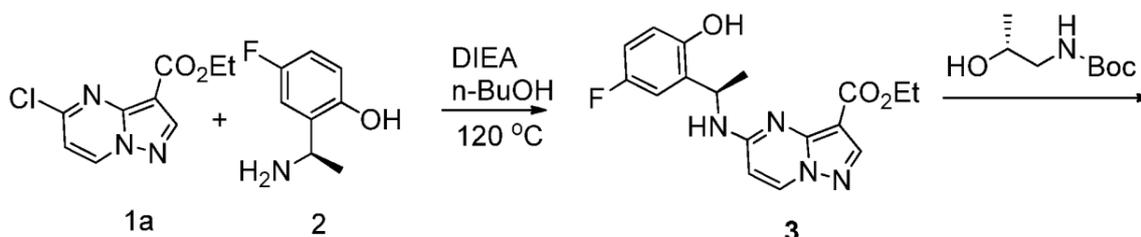
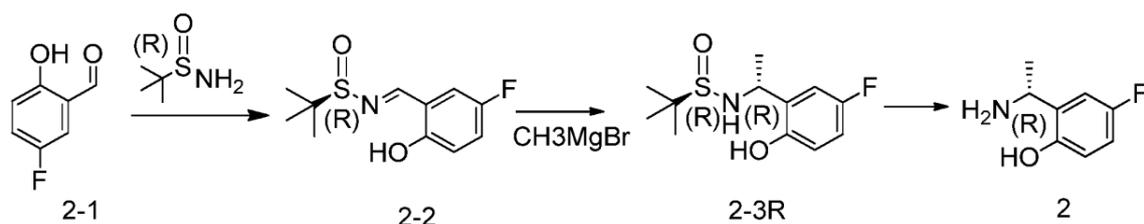
g	gramos
eq	equivalentes
mmol	milimoles
mol	moles
ml	mililitros
l	litros
EtOAc o EA	acetato de etilo
MeCN	acetonitrilo
DCM	diclorometano
DEAD	azodicarboxilato de dietilo
MHz	megahercios
δ	desplazamiento químico
THF	tetrahidrofurano

PE	éter de petróleo
R _f	factor de retardo
DMSO- <i>d</i> ₆	dimetil sulfóxido deuterado
CDCl ₃	cloroformo deuterado
n-BuOH	n-butanol
DIEA	N,N-diisopropiletilamina
TMSCl	cloruro de trimetilsililo
min	minutos
h, h o h	horas
TLC	cromatografía en capa fina
M	molar
EM	espectro de masas
<i>m/z</i>	cociente entre masa y carga
FDPP	difenilfosfinato de pentafluorofenilo
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	N,N-dimetilformamida

Síntesis del Compuesto 1

El Compuesto 1 se preparó de acuerdo con el siguiente esquema sintético:





Ejemplo 1: Preparación de 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato (1a).

5 Etapa 1: Preparación del 5-oxo-4H-pirazol-4-carboxilato de etilo (1-2)

A una mezcla de 5-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (Sigma-Aldrich, 150,00 g, 1,08 mmol) y (*E*)-3-etoxiprop-2-enoato de etilo (Sigma-Aldrich, 292,16 g, 2,03 mol) en DMF (3,2 l) se añadió Cs_2CO_3 (656,77 g, 2,02 mol) en una porción a $20\text{ }^\circ\text{C}$ bajo N_2 . La mezcla se agitó a $110\text{ }^\circ\text{C}$ durante 6 h. La TLC (PE:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se enfrió hasta $20\text{ }^\circ\text{C}$ y se filtró a través de una almohadilla de celita. La torta del filtro se lavó con acetato de etilo (3 x 30 ml). El filtrado se añadió a H_2O (2 l) y se acidificó con HOAc hasta $\text{pH} = 4$. El precipitado resultante se filtró para proporcionar **1-2** (173,00 g, 834,98 mmol, 86,36 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco: RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,54 (d, $J = 7,91\text{ Hz}$, 1H), 8,12 (s, 1H), 6,13 (d, $J = 7,91\text{ Hz}$, 1H), 4,27 (q, $J = 7,11\text{ Hz}$, 2H), 1,28 (t, $J = 7,09\text{ Hz}$, 3H).

15

Etapa 2: Preparación de 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato (1)

A una mezcla de **1-2** (158,00 g, 762,59 mmol) en MeCN (1,6 l) se añadió POCl_3 (584,64 g, 3,81 mol) a $20\text{ }^\circ\text{C}$ bajo N_2 . La mezcla se agitó a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h. La TLC (PE:EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se enfrió hasta $20\text{ }^\circ\text{C}$ y se vertió en agua helada (5.000 ml) en porciones a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó durante 20 min. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar **1a** (110,00 g, 487,52 mmol, 63,93 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco: RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,33 (d, $J = 7,28\text{ Hz}$, 1H), 8,66 (s, 1H), 7,41 (d, $J = 7,15\text{ Hz}$,

20

1H), 4,31 (q, $J = 7,15$ Hz, 2H), 1,32 (t, $J = 7,09$ Hz, 3H).

Ejemplo 2: Preparación de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2).

5 Etapa 1: Preparación de (R)-N-(5-fluoro-2-hidroxibenciliden)-2-metilpropan-2-sulfinamida (2-2)

A una solución de (R)-2-metilpropan-2-sulfinamida (Sigma-Aldrich, 150,00 g, 1,24 mol, 1,00 eq) y 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (2-1) (Sigma-Aldrich, 173,74 g, 1,24 mol, 1,00 eq) en DCM (2,00 l) se añadió Cs_2CO_3 (646,43 g, 1,98 mol, 1,60 eq). La mezcla se agitó a 16 °C durante 16 horas. La TLC (PE:EtOAc = 5:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (1.000 ml) a 0 °C y después se extrajo con EtOAc (500 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (1.000 ml) y se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar 2-2 (230,00 g, 945,33 mmol, 76,24 % de rendimiento). RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,64 (s, 1H), 7,22-7,11 (m, 2H), 7,03-6,95 (m, 1H), 1,28 (s, 9H).

15 Etapa 2: Preparación de (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropan-2-sulfinamida (2-3R)

A una solución de (R)-N-(5-fluoro-2-hidroxibenciliden)-2-metilpropan-2-sulfinamida (2-2) (200,00 g, 822,03 mmol, 1,00 eq) en THF (2,5 l) se añadió MeMgBr (490,09 g, 4,11 mol, 5,00 eq) gota a gota a -65 °C bajo N_2 durante un periodo de 30 min. La mezcla se calentó después hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La TLC (PE:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se había completado con la producción de dos diastereómeros. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de H_2O (2 l) a 0 °C, la mezcla se extrajo con EtOAc (500 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , éter de petróleo/acetato de etilo = de 50/1 a 1:1) para dar la (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropan-2-sulfinamida (2-3R) (125 g, la mancha superior, menos polar con un Rf: 0,5, PE:EA = 1:1). RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9,17 (s, 1H), 6,68 (dd, $J = 3,0, 8,8$ Hz, 1H), 6,47 (dt, $J = 3,0, 8,4$ Hz, 1H), 6,31 (dd, $J = 4,8, 8,8$ Hz, 1H), 5,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,28 (quin, $J = 7,2$ Hz, 1H), 1,43 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,20 (s, 9H).

30 Etapa 3: Preparación de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2)

Una solución de (R)-N-((R)-1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)-2-metilpropan-2-sulfinamida (2-3R) (125 g, 481,99 mmol, 1,00 eq) en HCl/dioxano (1,5 l, 4 N) se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. La TLC (PE:EtOAc = 2:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se filtró para dar la sal (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2) HCl (85 g, 443,56 mmol, 90,03 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (d-DMSO, 400 MHz) δ 10,24 (s, 1H), 8,48 (s. a., 3H), 7,31 (dd, $J = 2,9, 9,7$ Hz, 1H), 7,05-6,99 (m, 1H), 6,98-6,93 (m, 1H), 4,59-4,45 (m, 1H), 1,46 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

Ejemplo 3: Preparación de (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-f][1,4,8,10]benzoxatriazacilodidecin-4(5H)-ona (Compuesto 1).

40 Etapa 1: Preparación de (R)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (3)

A una solución de (R)-2-(1-aminoetil)-4-fluorofenol (2) (85 g, 443,56 mmol, 1,00 eq) y 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (1a) (100,08 g, 443,56 mmol, 1,00 eq) en n-BuOH (2 l) se añadió DIEA (343,96 g, 2,66 mol, 6,00 eq). La mezcla se agitó a 120 °C durante 2 h. La TLC (PE:EtOAc = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O (500 ml) a 16 °C, y se extrajo con EtOAc (500 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , éter de petróleo/acetato de etilo = de 10/1 a 1:3) para dar el (R)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (3) (122 g, 349,34 mmol, 78,76 % de rendimiento, ee > 99 % de pureza) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 9,28 (s. a., 1H), 8,26 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,95-6,89 (m, 2H), 6,87-6,80 (m, 1H), 6,18 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,98 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 5,71-5,54 (m, 1H), 4,50-4,35 (m, 2H), 1,60 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,42 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

55 Etapa 2: Preparación de 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((terc-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (4)

A una mezcla de (R)-5-((1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (3) (10,00 g, 29,04 mmol) y (R)-(2-hidroxiopropil)carbamato de terc-butilo (Combi-Blocks, 7,63 g, 43,56 mmol) se le realizó un secado azeotrópico en DCM/tolueno, y después se redisolvió en DCM (11,62 ml). A la solución se añadió PPh_3 (11,43 g, 43,56 mmol), y la mezcla se agitó hasta que los materiales de partida se disolvieron completamente. A la solución se añadió DEAD (8,81 g, 43,56 mmol) durante 5 min con mezcla. La reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (125 ml), seguido de la adición de una solución acuosa de NaOH (2 M, 100 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 12 horas y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con DCM (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó con una cromatografía ultra rápida (sistema

Teledyne ISCO, sílice (330 g), 0-40 % de acetato de etilo en hexano para proporcionar el 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (**4**) (8,88 g, 60,9 % de rendimiento). CL-EM m/z 502,2 (M+H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ 8,24 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 6,13 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,91 (s. a., 1H), 4,58 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,43-4,28 (m, 2H), 3,52-3,34 (m, 2H), 1,54 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,47-1,36 (m, 12H), 1,30 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

Etapa 3: Preparación del ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (**5**)

A una solución de 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (**4**) (6,98 g, 13,92 mmol, 1 eq) en metanol (65 ml) y THF (20 ml) se añadió LiOH (2 M, 47,9 ml, 95,8 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C durante 3 h, se enfrió hasta la temperatura ambiente, y después se inactivó con HCl ac. (2 M, 95,8 ml) para ajustar el pH < 5. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml), y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, la evaporación y el secado alto vacío, se obtuvo un sólido de color blanco de ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (**5**) que se usó en la etapa siguiente sin ninguna purificación adicional. CL-EM m/z 474,2 (M+H)⁺.

Etapa 4: Preparación del ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-aminopropan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (**6**)

A una solución del ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (**5**) (6,59 g, 13,92 mmol) en CH₂Cl₂ (130 ml) se añadió HCl en dioxano (4 M, 30,4 ml). La agitación se mantuvo a la temperatura ambiente durante 2 horas hasta que se mostró la finalización de la reacción mediante CL-EM. La mezcla de reacción se concentró y se secó alto vacío para proporcionar el compuesto **6** en forma de un sólido de color blanco, que se usó en la etapa siguiente sin ninguna purificación adicional. CL-EM m/z 374,2 (M+H)⁺.

Etapa 5: Preparación de (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5*H*)-ona (Compuesto 1).

Se disolvió el ácido 5-(((R)-1-(2-(((S)-1-aminopropan-2-il)oxi)-5-fluorofenil)etil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (**6**) (5,20 g, 13,93 mmol) en DMF (75 ml) para elaborar la Solución A. A una solución de base de Hunig (DIPEA) (14,40 g, 111,4 mmol) en DMF (150 ml) y DCM (350 ml) se añadió la solución A (25 ml) y un tercio del FDPP total (5,62 g, 14,63 mmol) secuencialmente. La reacción se agitó durante 1 hora, y la CL-EM mostró la finalización de la reacción de acoplamiento. El mismo proceso se repitió 2 veces más. La solución final se agitó a la temperatura ambiente durante 63 horas (o hasta que se mostró la finalización de la reacción mediante CL-EM). La reacción se inactivó mediante la adición de una solución acuosa de Na₂CO₃ (2 M, 150 ml), y la mezcla se agitó durante 15 min y se extrajo con DCM (3 x 150 ml). Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄, se concentraron a presión reducida y se purificaron con una cromatografía ultrarrápida (sistema Teledyne ISCO, sílice (220 g), 0-7,5 % de metanol en diclorometano) para proporcionar la (7*S*,13*R*)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazaciclotridecin-4(5*H*)-ona (**Compuesto 1**) (4,38 g, 12,33 mmol, 88,5 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z [M+H]⁺ 356,2. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,82 (dd, *J* = 8,02, 2,29 Hz, 1 H), 8,81 (d, *J* = 6,87 Hz, 1 H), 8,58 (d, *J* = 7,45 Hz, 1 H), 8,04 (s, 1 H), 7,12 (dd, *J* = 9,45, 3,15 Hz, 1 H), 6,99-7,05 (m, 1 H), 6,94-6,99 (m, 1 H), 6,36 (d, *J* = 7,45 Hz, 1 H), 5,53 (m, 1 H), 4,45-4,52 (m, 1 H), 3,90 (ddd, *J* = 13,46, 8,31, 4,01 Hz, 1 H), 3,10-3,17 (m, 1 H), 1,46 (d, *J* = 6,30 Hz, 3 H), 1,44 (d, *J* = 7,45 Hz, 3 H).

50 Ensayos *in vitro*

Materiales y Métodos

Método de ensayo de unión de la cinasa

Los ensayos de unión de la cinasa se realizaron en DiscoverX usando el protocolo general KINOMEscan *K_d* (Fabian, M. A. *et al.*, "A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors," Nat. Biotechnol. 2005, 23 (3):329-36). Para la mayoría de los ensayos, se prepararon cepas del fago T7 marcadas con cinasa en una *E. coli* hospedadora derivada de la cepa BL21. Las *E. coli* se cultivaron hasta la fase logarítmica y se infectaron con el fago T7 y se incubaron con agitación a 32 °C hasta su lisis. Los lisados se centrifugaron y se filtraron para eliminar los restos celulares. Las cinasas restantes se produjeron en células HEK-293 y posteriormente se marcaron con ADN para su detección por qPCR. Se trataron microesferas magnéticas recubiertas de estreptavidina con ligandos de molécula pequeña biotinilados durante 30 minutos a la temperatura ambiente para generar resinas de afinidad para los ensayos de cinasa. Las microesferas con los ligandos se bloquearon con un exceso de biotina y se lavaron con tampón de bloqueo (SeaBlock (Pierce), BSA al 1 %, Tween 20 al 0,05 %, DTT 1 mM) para eliminar el ligando no unido y reducir la unión no específica. Las reacciones de unión se ensamblaron combinando las cinasas, las

microesferas de afinidad con los ligandos y los compuestos de prueba en tampón de unión 1x (SeaBlock al 20 %, 0,17x de PBS, Tween 20 al 0,05 %, DTT 6 mM). Todas las reacciones se realizaron en placas de poliestireno de 96 pocillos en un volumen final de 0,135 ml. Las placas de ensayo se incubaron a la temperatura ambiente con agitación durante 1 hora y las microesferas de afinidad se lavaron con tampón de lavado (1x de PBS, Tween 20 al 0,05 %). Después, las microesferas se resuspendieron en tampón de elución (1x de PBS, Tween 20 al 0,05 %, ligando de afinidad no biotinilado 0,5 μ M) y se incubaron a la temperatura ambiente con agitación durante 30 minutos. La concentración de cinasa en los eluidos se midió por qPCR.

Las constantes de unión (K_d) se calcularon con una curva patrón de dosis-respuesta usando la ecuación de Hill: $\text{Respuesta} = \text{Fondo} + (\text{Señal} - \text{Fondo}) / (1 + (K_d^{\text{Pendiente de Hill}} / \text{Dosis}^{\text{Pendiente de Hill}}))$. La Pendiente de Hill se estableció en -1. Las curvas se ajustaron usando un ajuste de mínimos cuadrados no lineal con el algoritmo de Levenberg-Marquardt.

Método de ensayo bioquímico de la cinasa

El ensayo bioquímico de la cinasa se realizó en Reaction Biology Corporation (www.reactionbiology.com, Malvern, PA) siguiendo los procedimientos descritos en la referencia (Anastassiadis T, et al Nat Biotechnol. 2011, 29, 1039). En tampón de reacción se prepararon pares específicos de cinasa / sustrato junto con los cofactores necesarios; Hepes 20 mM a pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, EGTA 1 mM, Brij35 al 0,02 %, 0,02 mg/ml de BSA, Na₃VO₄ 0,1 mM, DTT 2 mM, DMSO al 1 % (para los detalles específicos de los componentes individuales de la reacción de cinasa, véase la Tabla complementaria 2). Se suministraron los compuestos a la reacción, seguido ~ 20 minutos después de la adición de una mezcla de ATP (Sigma, St. Louis MO) y ATP ³³P (Perkin Elmer, Waltham MA) hasta una concentración final de 10 μ M. Las reacciones se llevaron a cabo a la temperatura ambiente durante 120 min, seguido del manchado de las reacciones sobre papel de filtro de intercambio iónico P81 (Whatman Inc., Piscataway, NJ). El fosfato no unido se eliminó mediante un abundante lavado de los filtros con ácido fosfórico al 0,75 %. Después de restar el fondo derivado de las reacciones de control que contienen la enzima inactiva, los datos de actividad de la cinasa se expresaron como el porcentaje de actividad de cinasa remanente en las muestras de prueba en comparación con las reacciones en vehículo (dimetilsulfóxido). Los valores de CI₅₀ y los ajustes de la curva se obtuvieron usando Prism (GraphPad Software).

Líneas celulares y cultivo celular:

La línea celular de cáncer de pulmón humana NCI-H2228 se obtuvo en la ATCC. Las líneas celulares 293T, NIH3T3, Ba/F3, y HCC78 se adquirieron en DSMZ. La línea celular Karpas-299 se adquirió en Sigma. La línea celular KM12 se obtuvo en NCI.

La NIH3T3 se mantuvo en medio DMEM complementado con suero bovino fetal al 10 % y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Las HCC78, Karpas-299 y H2228 se mantuvieron en RPMI-1640 complementado con suero bovino fetal al 10 % con 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Las células Ba/F3 se mantuvieron en RPMI-1640 complementado con suero bovino fetal al 10 %, 10 % (Vol/Vol) de medio condicionado de las células mielomonocíticas WIHI-3B secretoras de IL-3 y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Las líneas celulares estables BaF3 se mantuvieron en RPMI-1640 complementado con suero bovino fetal al 10 %, 100 U/ml de penicilina y 0,5 μ g/ml de solución de puromicina.

Clonación y creación de la línea celular estable Ba/F3 o NIH3T3

El gen EML4-ALK (variante 1) se sintetizó en GenScript y se clonó en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc). En el EML4-ALK se generaron las mutaciones puntuales G1202R, L1196M, L1152P, F1174C, C1156Y, I1171N, G1269S, y la inserción 1151T en GenScript por PCR, y se confirmaron mediante secuenciación. Las Ba/F3-EML4-ALK naturales y mutantes se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen la EML4-ALK natural o mutante. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5 x 10⁶ células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de 8 μ g/ml de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con 1 μ g/ml de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

El SDC4-ROS1 natural, el CD74-ROS1 natural y sus genes mutantes G2032R se sintetizaron en GenScript y se clonaron en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc), y se confirmaron mediante secuenciación. El Ba/F3 SDC4-ROS1, el CD74-ROS1 y los correspondientes mutantes G2032R se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen los genes de fusión. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5 x 10⁶ células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de 8 μ g/ml de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con 1 μ g/ml de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

Las líneas celulares Ba/F3 TPR-ALK y Ba/F3 TPR-ALK L1196M se crearon en Advanced Cellular Dynamics, Inc., y los ensayos de proliferación celular se realizaron allí. El propio grupo ACD está comprendido por 92 cinasas únicas expresadas individualmente en una línea celular linfocítica común (células de ratón Ba/F3). Cada línea celular depende de la actividad de la cinasa recombinante para su supervivencia.

Los genes mutantes SDC4-ROS1 L2026M y D2033N sintetizaron en GenScript y se clonaron en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc), y se confirmaron mediante secuenciación. Los mutantes Ba/F3 CD74-ROS1 L2026M y D2033N se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen los genes de fusión. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5×10^6 células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de $8 \mu\text{g/ml}$ de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

La LMNA-TRKA natural y sus genes mutantes G595R se sintetizaron en GenScript y se clonaron en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc), y se confirmaron mediante secuenciación. La Ba/F3 LMNA-TRKA y el correspondiente mutante G595R se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen los genes de fusión. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5×10^6 células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de $8 \mu\text{g/ml}$ de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

La TEL-TRKB (denominada también ETV6-TRKB) natural y sus genes mutantes G639R se sintetizaron en GenScript y se clonaron en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc), y se confirmaron mediante secuenciación. La Ba/F3 TEL-TRKB y los correspondientes mutantes G639R se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen los genes de fusión. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5×10^6 células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de $8 \mu\text{g/ml}$ de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

La TEL-TRKC (denominada también ETV6-TRKC) natural y sus genes mutantes G623R se sintetizaron en GenScript y se clonaron en el plásmido pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro (System Biosciences, Inc), y se confirmaron mediante secuenciación. La Ba/F3 TEL-TRKC y el correspondiente mutante G623R se generaron transduciendo células Ba/F3 con lentivirus que contienen los genes de fusión. Las líneas celulares estables se seleccionaron mediante un tratamiento con puromicina, seguido de la retirada de la IL-3. En resumen, se transdujeron 5×10^6 células Ba/F3 con sobrenadante de lentivirus en presencia de $8 \mu\text{g/ml}$ de sulfato de protamina. Posteriormente, las células transducidas se seleccionaron con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina en presencia de medio RPMI1640 que contiene IL3, más un 10 % de FBS. Después de 10-12 días de selección, se seleccionaron adicionalmente las células supervivientes para un crecimiento independiente de IL3.

Se generaron líneas celulares estables NIH3T3 ALK o ROS1 transduciendo las células con lentivirus que contienen los genes EML4-ALK natural y G1202R mutante, El SDC4-ROS1 natural, el CD74-ROS1 natural y sus genes mutantes G2032R. Las células transducidas se seleccionaron posteriormente con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina.

Se generaron líneas celulares estables NIH3T3 ROS1, o TRKA, o TRKB, o TRKC, transduciendo las células con lentivirus que contienen los genes CD74-ROS1 L2026M natural y D2033N mutante, los genes LMNA-TRKA natural y G595R mutante, los genes TEL-TRKB natural y G639R mutante, los genes TEL-TRKB natural y G623R mutante, respectivamente. Las células transducidas se seleccionaron posteriormente con $1 \mu\text{g/ml}$ de puromicina.

Ensayo de proliferación celular:

Se sembraron dos mil células por pocillo en una placa de color blanco de 384 pocillos durante 24 h, y después se trataron con compuestos durante 72 horas (37°C , 5 % de CO_2). La proliferación celular se midió usando el ensayo de detección de ATP basado en luciferasa CellTiter-Glo (Promega) siguiendo el protocolo del fabricante. Las determinaciones de la CI_{50} se realizaron usando el programa informático GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

El ensayo de proliferación celular de las líneas celulares Ba/F3 TPR-ALK y Ba/F3 TPR-ALK L1196M se realizaron en Advanced Cellular Dynamics, Inc. La inhibición de la actividad de la cinasa conduce a la muerte celular, lo cual se monitoriza a través de la concentración de ATP usando CellTiter-Glo (Promega). Las líneas celulares se mantuvieron en medio de cultivo RPMI-1640 que contiene un 10 % de suero bovino fetal y antibióticos. Se recogieron las células en fase de crecimiento logarítmica y se distribuyeron 5.000 células en cada pocillo de una placa de 384 pocillos en

50 µl de medio de crecimiento. Las células parentales (únicamente) se sembraron en presencia de 10 ng/ml de IL3 para apoyar el crecimiento y la supervivencia celular. Se añadieron cincuenta nanolitros de compuesto diluido a los pocillos apropiados, por duplicado, y las células se cultivaron durante 48 horas a 37°C en una atmósfera humidificada con un 5 % de CO₂. La viabilidad se determinó mediante la adición de 15 µl de CellTiter-Glo y midiendo la luminiscencia, que se notificó en forma de unidades luminosas relativas (ULR) medida en recuentos por segundo.

Inmunotransferencia para los ensayos de fosforilación de la cinasa celular

La línea celular H2228 de NSCLC (portadora del gen de fusión endógeno EML4-ALK), las células HCC78 (portadoras del gen de fusión endógeno SLC34A2-ROS1), las células Karpas-299 (portadoras del gen de fusión endógeno NPM-ALK) o SET-2 (portadoras de la mutación activadora JAK2V617F) se cultivaron en medio RPMI, y la línea celular KM12 (portadora del gen de fusión endógeno TPM3-TRKA) se cultivó en medio DMEM, ambos complementados con un 10 % de suero bovino fetal y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Las células Ba/F3 y NIH3T3 que expresan de forma estable la ALK o el ROS1 (NATURAL o mutante) se cultivaron como se ha mencionado anteriormente. Se sembró medio millón de células por pocillo en una placa de 24 pocillos durante 24 h, y después se trataron con los compuestos durante 4 horas. Las células se recogieron después del tratamiento y se lisaron tampón RIPA (Tris 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, 1 % de NP-40, 0,5 % de desoxicolato, 0,1 % de SDS) complementado con EDTA 10 mM, 1x de proteasa Halt e inhibidores de la fosfatasa (Thermo Scientific). Los lisados de proteína (aproximadamente 20 µg) se resolvió con un 4-12 % de geles Bolt Bis-Tris premoledados con tampón de análisis MES (Life Technologies), se transfirieron a membranas de nitrocelulosa usando el Trans-Blot Turbo Transfer System (Bio-Rad) y se detectaron con anticuerpos dirigidos a la ALK Y1604 fosforilada (Cell Signaling Technology), la ALK total (Cell Signaling Technology), el ROS 1 fosforilado y el ROS 1 total (Cell Signaling Technology), la TRK A/B fosforilada (Cell Signaling Technology), el anticuerpo TRKA total (Santa Cruz Biotechnology), los STAT3 y STAT5 fosforilados, los STAT3 y STAT5 totales (Cell Signaling Technology), la AKT fosforilada (Cell Signaling Technology), la AKT total (Cell Signaling Technology), la ERK fosforilada (Cell Signaling Technology), la ERK total (Cell Signaling Technology) y la tubulina (Sigma). Los anticuerpos se incubaron normalmente hasta el día siguiente a 4 °C con agitación suave, seguida por lavados y la incubación con los apropiados anticuerpos secundarios conjugados con HRP. Las membranas se incubaron con sustrato quimioluminiscente durante 5 min a la temperatura ambiente (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific). Las imágenes quimioluminiscentes se adquirieron con un C-DiGit Imaging System (LI-COR Biosciences). La densidad relativa de las bandas quimioluminiscentes se cuantificaron a través de Image Studio Digits de LICOR. El valor de la concentración inhibidora semimáxima (CI₅₀) se calcula usando un análisis de regresión no lineal a través del programa informático GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

La línea celular H2228 de NSCLC (portadora del gen de fusión EML4-ALK) se cultivó en medio RPMI complementado con suero bovino fetal al 10 % y 100 U/ml de penicilina/estreptomicina. Las células Ba/F3 y NIH3T3 que expresan de forma estable ROS1, o TRKA, o TRKB, o TRKC (NATURAL o mutante), se cultivaron como se ha mencionado anteriormente. Se sembró medio millón de células por pocillo en una placa de 24 pocillos durante 24 h, y después se trataron con los compuestos durante 4 horas. Las células se recogieron después del tratamiento y se lisaron tampón RIPA (Tris 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, 1 % de NP-40, 0,5 % de desoxicolato, 0,1 % de SDS) complementado con EDTA 10 mM, 1x de proteasa Halt e inhibidores de la fosfatasa (Thermo Scientific). Los lisados de proteína (aproximadamente 20 µg) se resolvió con un 4-12 % de geles Bolt Bis-Tris premoledados con tampón de análisis MES (Life Technologies), se transfirieron a membranas de nitrocelulosa usando un Trans-Blot Turbo Transfer System (Bio-Rad) y se detectaron con anticuerpos dirigidos al ROS1 fosforilado y al ROS1 total (Cell Signaling Technology), la TRK A/B fosforilada (Cell Signaling Technology), el anticuerpo TRKA total (Santa Cruz Biotechnology), la SRC Y416 fosforilada (Cell Signaling Technology), la SRC total (Cell Signaling Technology), la FAK Y576/577 fosforilada (Cell Signaling Technology), la FAK total (Cell Signaling Technology), la paxilina Y118 fosforilada (Cell Signaling Technology), la paxilina total (Cell Signaling Technology), el EGFR y fosforilado el EGFR total, la CD44 y la tubulina (Sigma). Los anticuerpos se incubaron normalmente hasta el día siguiente a 4 °C con agitación suave, seguida por lavados y la incubación con los apropiados anticuerpos secundarios conjugados con HRP. Las membranas se incubaron con sustrato quimioluminiscente durante 5 min a la temperatura ambiente (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific). Las imágenes quimioluminiscentes se adquirieron con un C-DiGit Imaging System (LI-COR Biosciences). La densidad relativa de las bandas quimioluminiscentes se cuantificaron a través de Image Studio Digits de LICOR. El valor de la concentración inhibidora semimáxima (CI₅₀) se calcula usando un análisis de regresión no lineal a través del programa informático GraphPad Prism (GraphPad, Inc., San Diego, CA).

Ensayos de apoptosis/actividad de la caspasa.

Las células Karpas-299 se mantuvieron en medio RPMI complementado con suero bovino fetal al 10 % y antibióticos. Se sembraron cinco mil células por pocillo en una placa de 12 pocillos y se introdujeron varias concentraciones de los compuestos, y se incubaron durante 48 h. Después, las células se recogieron y se lisaron con tampón de lisis (HEPES 20 mM, NaCl 150 mM, KCl 10 mM, EDTA 5 mM, 1 % de NP40) complementado con proteasa Halt e inhibidores de la fosfatasa (Thermo Scientific). Para los ensayos de la caspasa, se incubaron aproximadamente 20 µg del lisado celular con 20 µl de reactivo caspasa-3 glo (Promega), y la actividad enzimática se midió por la liberación de luminiscencia después de 20 min de incubación a 37 °C. Para la

inmunoelctrotransferencia, el lisado celular se hirvió y se analizó mediante SDS-PAGE/inmunotransferencia usando anticuerpos anti-caspasa-3 (Cell Signaling Technology), anti-PARP (Cell Signaling Technology) o anti-actina (Cell Signaling Technology). Los anticuerpos se incubaron normalmente hasta el día siguiente a 4 °C con agitación suave, seguida por lavados y la incubación con los apropiados anticuerpos secundarios conjugados con HRP. Las membranas se incubaron con sustrato quimioluminiscente durante 5 min a la temperatura ambiente (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific), y las imágenes quimioluminiscentes se obtuvieron con un C-DiGit Imaging System (LI-COR Biosciences).

Ensayo de curación de heridas por raspado

Se sembraron células HT1080 o HCC78 en medio RPMI complementado con un 10 % de suero bovino fetal y antibióticos en una placa de 24 pocillos. Después de 12-24 horas, las monocapas de células confluentes se rasparon suavemente con una punta de pipeta estéril para formar un raspado. Las placas se lavaron con medio reciente y las células incubaron con medio solo o con medio que contiene varias concentraciones de compuestos. Después de 12-24 horas, las placas se analizaron y se registraron con un microscopio EVOS FL (Life Technology) para monitorizar el resellado de la monocapa celular.

Métodos *in vivo*

Líneas celulares

Las líneas celulares se cultivaron usando las técnicas convencionales en medio DMEM o RPMI-1640 (Corning, Inc) con un 10 % de suero bovino fetal (Thermo Fisher Scientific, Inc) a 37 °C en una atmósfera humidificada con un 5 % de CO₂. Para la implantación, las células se recogieron y se sedimentaron mediante centrifugación a 250 g durante 2 minutos. Las células se lavaron una vez y se resuspendieron en medio sin suero, con un 50 % de matrigel (v/v) según fuera necesario.

Modelos de xenoinjerto subcutáneo en ratones inmunodeprimidos

Los ratones atímicos hembras y los ratones SCID/Beige (5-8 semanas de edad) se obtuvieron en Charles River Laboratory y se alojaron en jaulas desechables Innovive IVC con estantes ventilados con filtros HEPA con acceso libre a comida para roedores y agua. Se implantaron subcutáneamente cinco millones de células en 100 µl de medio sin suero en la región costal derecha del ratón. Las células Karpas299 se implantaron en los ratones SCID/Beige. células KM12, Las células NIH3T3 EML4-ALK naturales mutantes, y las células NIH3T3 SCD4-ROS1 naturales mutantes se implantaron en los ratones atímicos, respectivamente. Todos los modelos, excepto KM12, se implantaron con 50 % de matrigel (Corning, Inc) en el medio. Los días designados se midió el tamaño del tumor y se registró el peso corporal. El tamaño del tumor se midió con un calibre electrónico, y el volumen tumoral se calculó como el producto de la longitud * anchura² * 0,5. Los ratones se dividieron aleatoriamente según el tamaño del tumor en grupos de tratamiento cuando el volumen tumoral alcanzaba aproximadamente 100-200 mm³ y el Compuesto 1 se administró por vía oral (dos veces al día) a la dosis determinada.

Los ratones atímicos hembras y los ratones SCID/Beige (5-8 semanas de edad) se obtuvieron en Charles River Laboratory y se alojaron en jaulas desechables Innovive IVC con estantes ventilados con filtros HEPA con acceso libre a comida para roedores y agua. Se implantaron subcutáneamente cinco millones de células en 100 µl de medio sin suero en la región costal derecha del ratón. Las células Ba/F3 EML4-ALK naturales y G1202R mutantes, las células Ba/F3 CD74-ROS1 naturales y G2032R mutantes se implantaron en los ratones SCID/Beige. Las células NIH3T3 CD74-ROS1 G2032 mutantes, las células NIH3T3 LMNA-TRKA naturales y G595R mutantes se implantaron en los ratones atímicos, respectivamente. Todos los modelos se implantaron con 50 % de matrigel (Corning, Inc) en el medio. Los días designados se midió el tamaño del tumor y se registró el peso corporal. El tamaño del tumor se midió con un calibre electrónico, y el volumen tumoral se calculó como el producto de la longitud * anchura² * 0,5. Los ratones se dividieron aleatoriamente según el tamaño del tumor en grupos de tratamiento cuando el volumen tumoral alcanzaba aproximadamente 100-200 mm³ y el Compuesto 1 se administró por vía oral (dos veces al día) a la dosis determinada.

Preparación del tumor e inmunotransferencia para los estudios farmacodinámicos *in vivo*

Los ratones portadores de los tumores xenoinjertados se sacrificaron humanamente, y los tumores se extirparon y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido, y se almacenaron a -80 °C. Las muestras tumorales congeladas se prepararon a 4 °C en 1x Cell Lysis Buffer (Cell Signaling Technologies) para extraer las proteínas. Las muestras de carga de SDS se prepararon añadiendo un volumen de 4x LDS Sample Buffer (Life Technologies, Inc) en tres volúmenes del lisado de proteína. Las muestras de proteína tumoral en SDS se prepararon mediante una SDS-PAGE y se inmunotransfirieron con anticuerpos de conejo anti-ALK fosforilada y de ratón anti-actina (Cell Signaling Technologies). Las señales de la membrana de filtro se detectaron mediante un C-DiGit Blot Scanner de LI-COR y la intensidad de la señal se cuantificó usando el programa informático Studio Digit (LI-COR).

Datos y resultados:

Ejemplo 4a: Afinidades de unión a la cinasa y actividades enzimáticas de la cinasa del Compuesto 1.

La afinidad de unión a la cinasa del Compuesto 1 se cribó en DiscoverX en un grupo de 460 cinasas, seguido por la determinación de la K_d para los resultados positivos. el Compuesto 1 mostró unas fuertes afinidades de unión con ALK, ROS1, TRKA/B/C, JAK2, SRC, FAK y ARK5 (Tabla 1). Adicionalmente, las actividades enzimáticas de inhibición de la cinasa del Compuesto 1 a una concentración de ATP de 10 μ M se determinaron en Reaction Biology, y los resultados de las Cl_{50} se resumieron en la Tabla 1.

Tabla 1

Objetivo	ALK	ROS1	TRKA	TRKB	TRKC	JAK2	SRC	FAK	ARK5
K_d (nM)	5,7	0,19	0,019	0,054	0,088	0,082	12,0	27	3,7
Cl_{50} (nM)	1,04	0,0706	0,826	0,0517	0,0956	1,04	5,29	6,96	4,46

Ejemplo 4b: Actividades de cinasa enzimática del Compuesto 1.

La afinidad de unión a la cinasa del Compuesto 1 se cribó en DiscoverX en un grupo de 460 cinasas. Los resultados positivos para la cinasa del compuesto 1 fueron adicionalmente confirmados con el ensayo enzimático combinado de inhibición de la cinasa usando una concentración de ATP de 10 μ M en Reaction Biology, y los resultados de las Cl_{50} se resumieron en la Tabla 1b.

Tabla 1b.

Objetivo	Cl_{50} (nM) a 10 μ M de ATP	Objetivo	Cl_{50} (nM) a 10 μ M de ATP	Objetivo	Cl_{50} (nM) a 10 μ M de ATP
TRKB	0,05	SNARK	13,0	JAK3	50
ROS1	0,07	HCK	16,4	EPHA8	50,2
TRKC	0,1	IRR	18,1	IGFR	111
TRKA	0,83	LCK	18,6	PLK4	126
ALK	1,04	JAK1	19	AXL	149
JAK2	1,04	TYK2	21,6	MARK3	512
FYN	1,05	LTK	21,8		
LYN	1,66	DDR2	23		
SÍ	2,15	BTK	23,7		
FGR	3,05	TNK2	24,1		
TXK	3,17	EPHA1	25,0		
ARK5	4,46	BLK	32,3		
SRC	5,3	GRK7	35,2		
DDR1	5,7	PYK2	39,9		
FAK	6,96	RET	47,1		

Ejemplo 5: Evaluación de la actividad del Compuesto 1 frente a un grupo de mutaciones de la ALK.

El Compuesto 1 se evaluó frente a mutaciones resistentes de la ALK en ensayos enzimáticos de cinasa con una concentración de ATP de 10 μ M en Reaction Biology, Inc. Los resultados se resumieron en la Tabla 2. Se observó una potente inhibición por parte del Compuesto 1 entre los ALK y ROS1 naturales y mutantes.

Tabla 2

	NPM-ALK	ALK natural	ALK T1151M	ALK 1151Tins	ALK L1152R	ALK C1156Y	ALK F1174L
Cl_{50} (nM)	1,23	1,04	0,49	2,16	1,23	0,93	1,46
	ALK F1174S	ALK L1196M	ALK G1202R	ALK S1206R	ALK G1269A	ALK G1269S	ALK R1275Q
Cl_{50} (nM)	1,02	1,08	1,21	0,53	5,5	14,1	2,79
	ROS1 NATURAL	ROS1 G2032R	ROS1-TPM3				
Cl_{50} (nM)	0,0706	0,456	0,113				

Ejemplo 6: El Compuesto 1 inhibió fuertemente la proliferación celular en líneas celulares primarias con una fusión oncogénica o genes mutados de la ALK, el ROS1, la TRKA o el JAK2.

Las fusiones de ALK son las principales iniciadoras de malignidad en múltiples tipos de cáncer y líneas celulares cancerosas, que incluyen la línea celular de linfoma Karpas-299 portadora del gen de fusión NPM-ALK, la línea

5 celular de cáncer de pulmón no microcítico H2228 portadora del gen de fusión EML4-ALK, la línea celular de cáncer de pulmón no microcítico HCC78 portadora del gen de fusión SLC34A2-ROS1, la línea celular de cáncer colorrectal KM12 portadora del gen de fusión TPM3-TRKA y la línea celular de leucemia SET-2 portadora de la mutación JAK2 V617F. Se evaluaron las actividades antiproliferativas del Compuesto 1 en estas líneas celulares, y los resultados se resumieron en la Tabla 3.

Ejemplo 7: Evaluación de la actividad del Compuesto 1 frente a un grupo de mutaciones en el gen de la ALK en líneas celulares Ba/F3 genomanipuladas.

10 Adicionalmente, usamos las células Ba/F3 genomanipuladas para expresar el gen de fusión natural EML4-ALK y los EML4-ALK mutantes. El crecimiento de las células Ba/F3 las células depende de la interleucina-3 (IL-3). Con la expresión ectópica del gen EML4-ALK, el crecimiento de las células Ba/F3 se vuelve independiente de la IL-3 y se basa en la actividad de cinasa de la fusión oncogénica ALK. El Compuesto 1 inhibió fuertemente la proliferación celular de varias líneas celulares Ba/F3 con una expresión genomanipulada de los EML4-ALK naturales y mutantes, 15 y los resultados se resumieron en la Tabla 3.

La inhibición de la proliferación celular de las líneas celulares Ba/F3 TPR-ALK y Ba/F3 TPR-ALK L1196M se realizó en Advanced Cellular Dynamics. El Compuesto 1 mostró una potente inhibición en ambas líneas celulares (Tabla 3).

20 **Ejemplo 8: Evaluación de la actividad del Compuesto 1 frente al ROS1 en líneas celulares Ba/F3 genomanipuladas.**

Las células Ba/F3 fueron genomanipuladas para expresar los genes de fusión oncogénicos SDC4-ROS1, SDC4-ROS1^{G2032R}, CD74-ROS1 y CD74-ROS1^{G2032R}, respectivamente. Las células Ba/F3 genomanipuladas con genes de fusión ROS1 se usaron para analizar la actividad inhibidora del Compuesto 1 en genes de fusión ROS1 naturales y 25 mutantes. Los resultados de la inhibición del crecimiento celular se resumieron en la Tabla 3.

Las células Ba/F3 fueron genomanipuladas para expresar los genes de fusión oncogénicos CD74-ROS1^{L2026M} y CD74-ROS1^{D2033N}, respectivamente. Las células Ba/F3 genomanipuladas con genes de fusión ROS1 se usaron para 30 analizar la actividad inhibidora del Compuesto 1. Los resultados de la inhibición del crecimiento celular se resumieron en la Tabla 3.

Las células Ba/F3 fueron genomanipuladas para expresar los genes de fusión oncogénicos LMNA-TRKA y LMNA-TRKA^{G595R}, respectivamente. Las células Ba/F3 genomanipuladas con genes de fusión TRKA se usaron para 35 analizar la actividad inhibidora del Compuesto 1. Los resultados de la inhibición del crecimiento celular se resumieron en la Tabla 3.

Las células Ba/F3 fueron genomanipuladas para expresar los genes de fusión oncogénicos TEL-TRKB (denominado también ETV6-TRKB) y TEL-TRKB^{G639R}, respectivamente. Las células Ba/F3 genomanipuladas con genes de fusión 40 TRKB se usaron para analizar la actividad inhibidora del Compuesto 1s. Los resultados de la inhibición del crecimiento celular se resumieron en la Tabla 3.

Las células Ba/F3 fueron genomanipuladas para expresar los genes de fusión oncogénicos TEL-TRKC (denominado también ETV6-TRKC) y TEL-TRKC^{G623R}, respectivamente. Las células Ba/F3 genomanipuladas con genes de fusión 45 TRKC se usaron para analizar la actividad inhibidora del Compuesto 1. Los resultados de la inhibición del crecimiento celular se resumieron en la Tabla 3.

Tabla 3

Ensayos	Cl ₅₀ (nM)
Proliferación celular de la línea celular Karpas-299	23,7
Proliferación celular de la línea celular NCI-H2228	73
Proliferación celular de la línea celular HCC78	0,3
Proliferación celular de la línea celular KM12	0,3
Proliferación celular de la línea celular SET-2	169
Proliferación celular de la línea celular natural Ba/F3 EML4-ALK	17,8
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK G1202R	20,5
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK L1152P	85
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK L1196M	50
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK F1174C	54
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK C1156Y	98

(continuación)

Ensayos	Cl ₅₀ (nM)
Proliferación celular de la línea celular natural Ba/F3 TPR-ALK	12
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 TPR-ALK L1196M	13,4
Proliferación celular de la línea celular natural Ba/F3 CD74-ROS 1	0,2

Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS 1 G2032R	8,4
Proliferación celular de la línea celular natural Ba/F3 SDC4-ROS 1	0,2
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 SDC4-ROS 1 G2032R	5
Proliferación celular de la Ba/F3 +IL3 parental	1236
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS 1 L2026M	5
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS 1 D2033N	0,2
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 LMNA-TRKA	0,2
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 LMNA-TRKA G595R	0,4
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 TEL-TRKB (ETV6-TRKB)	0,2
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 TEL-TRKB (ETV6-TRKB) G639R	0,6
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 TEL-TRKC (ETV6-TRKC)	0,2
Proliferación celular de la línea celular Ba/F3 TEL-TRKC (ETV6-TRKC) G623R	3

Ejemplo 9: Mecanismo de acción del Compuesto 1 en las células.

Se evaluó la actividad farmacodinámica inhibidora del Compuesto 1 sobre la ALK, el ROS1, la TRKA y le SRC, y la correspondiente señalización anterógrada en las células, y los resultados se resumieron en la Tabla 4. El Compuesto 1 causó la supresión de la autofosforilación de la ALK, así como la fosforilación anterógrada de STAT3 y AKT, a unas CI_{50} de aproximadamente 1-3 nM en la línea celular Karpas-299, que porta el gen de fusión NPM-ALK. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de ROS 1, así como la fosforilación anterógrada de STAT3 y AKT, a unas CI_{50} de aproximadamente 1-3 nM en la línea celular HCC78, que porta el gen de fusión SLC34A2-ROS1. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de TRKA, así como la fosforilación anterógrada de AKT y ERK, a unas CI_{50} de aproximadamente 0,3 nM en la línea celular KM12, que porta el gen de fusión TPM3-TRKA. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de STAT5 a una CI_{50} de aproximadamente 158 nM en la línea celular SET-2, que porta la mutación JAK2 V617F. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de ALK con una CI_{50} de 20-30 nM en líneas celulares estables Ba/F3 genomanipuladas que codifican los genes de fusión naturales o G1202R mutantes EML4-ALK v1. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de ROS1 en líneas celulares estables Ba/F3 genomanipuladas que codifican los genes de fusión naturales o G2032R mutantes CD74-ROS1 o SDC4-ROS1. Se evaluó la actividad farmacodinámica inhibidora del Compuesto 1 sobre la señalización de TRKA, la TRKB, la TKRC y la FAK en las células, y los resultados se resumieron en la Tabla 4a. El Compuesto 1 inhibió la fosforilación de FAK, así como la fosforilación del sustrato de la paxilina SRC, a unas CI_{50} de aproximadamente 103 nM en la línea celular NCI-H2228, que porta el gen de fusión EML4-ALK con la señalización SRC y FAK regulada por aumento. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de ROS1 en líneas celulares estables Ba/F3 genomanipuladas que codifican los genes de fusión L2026M o D2033N mutantes CD74-ROS1. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de TRKA en líneas celulares estables NIH3T3 genomanipuladas que codifican los genes de fusión naturales o G595R mutantes LMNA- TRKA. El Compuesto 1 inhibió la autofosforilación de TRKB en líneas celulares estables NIH3T3 genomanipuladas que codifican los genes de fusión naturales o G639R mutantes TEL-TRKB, denominados también ETV6-TRKB.

Tabla 4

Ensayos	CI_{50} (nM)
Fosforilación de la ALK de la línea celular Karpas-299	0,9
Fosforilación de la ALK de la línea celular NCI-H2228	5,8
Fosforilación de la ALK de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK NATURAL	29,9
Fosforilación de la ALK de la línea celular Ba/F3 EML4-ALK G1202R	18,4
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular HCC78	2
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS1 NATURAL	0,3
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS1 G2032R	3
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 SDC4-ROS1 NATURAL	0,5
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 SDC4-ROS1 G2032R	2

(continuación)

Ensayos	CI_{50} (nM)
Fosforilación de la TRKA de la línea celular KM12	0,35
Fosforilación de la STAT5 de la línea celular SET-2	158
Fosforilación de la SRC de la línea celular H2228	102

Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS1 L2026M	10
Fosforilación de la ROS1 de la línea celular Ba/F3 CD74-ROS1 D2033N	<1
Fosforilación de la TRKA de la línea celular NIH3T3 LMNA-TRKA	0,01
Fosforilación de la TRKA de la célula NIH3T3 LMNA- TRKA G595R	0,1
Fosforilación de la TRKB de la línea celular NIH3T3 TEL-TRKB	<0,1
Fosforilación de la TRKB de la célula NIH3T3 TEL- TRKB G639R	1
Fosforilación de la FAK de la línea celular NCI-H2228	100

El Compuesto 1 aumentó el número de células Karpas-299 apoptóticas. Después de 48 horas de tratamiento con el Compuesto 1, las células Karpas-299 se lisaron y se evaluaron con el ensayo de escisión de la caspasa 3/7 caspasa 3 glo o PARP en un ensayo de inmunoelectrotransferencia. Los resultados se presentaron en la FIG. 1.

5 El Compuesto 1 inhibió la migración de las células HCC78 o HT1080 después de 12 horas de tratamiento en los ensayos de curación de heridas por raspado. Los resultados se presentaron en la FIG. 2

10 El Compuesto 1 reguló por disminución la expresión del EGFR en células H2228

La activación de la actividad de la cinasa SRC regula por aumento el nivel de expresión de la RTK, dando lugar a una resistencia de la ruta de señalización de elusión. La inhibición de la SRC dará como resultado la regulación por disminución de las RTK. El Compuesto 1 reguló por disminución la expresión del EGFR de una forma dependiente de la dosis y del tiempo, como se muestra en la FIG. 3.

15 El Compuesto 1 reguló por disminución la expresión del EGFR en células H2228

20 El CD44 es un biomarcador la pluripotencialidad del cáncer. Se descubrió un alto nivel de expresión del CD44 en las células H2228. El Compuesto 1 suprimió el nivel de expresión del CD44 en las células H2228 de una forma dependiente de la concentración después de 48 horas de tratamiento, como se muestra en la FIG. 4, lo que indica que el compuesto 1 tiene el potencial de inhibir la pluripotencialidad del cáncer.

Estudios *in vivo*

25 Eficacia antitumoral del Compuesto 1 en modelos de xenoinjerto tumoral

Se evaluó la eficacia antitumoral del Compuesto 1 en varios modelos de xenoinjerto tumoral que representan poblaciones de cánceres en los que está implicada la desregulación de ALK, ROS 1 o TRKA.

30 Ejemplo 10: Modelo de ALCL Karpas 299

Se ha demostrado que el gen de fusión NPM-ALK en las células Karpas 299 es el iniciador del crecimiento tumoral. A ratones SCID/Beige portadores de tumores Karpas 299 (con un tamaño tumoral medio de 160 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante siete días (FIG. 5). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media \pm eem en la FIG. 5. Un * indica que los VTM son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. La inhibición del crecimiento tumoral (ICT) se calculó como $100 \% * \{1 - [(VTM_{\text{Tratado último día de tratamiento}} - VTM_{\text{Tratado primer día de tratamiento}}) / (VTM_{\text{control el último día de tratamiento}} - VTM_{\text{control el primer día de tratamiento}})]\}$ cuando el $VTM_{\text{Tratado último día de tratamiento}} \geq VTM_{\text{Tratado primer día de tratamiento}}$. En el caso de $VTM_{\text{Tratado último día de tratamiento}} < VTM_{\text{Tratado primer día de tratamiento}}$, la regresión tumoral (REG) se calculó como $10 \% (1 - VTM_{\text{Tratado último día de tratamiento}} / VTM_{\text{Tratado primer día de Tratamiento}})$. En este estudio, el Compuesto 1 mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral al 59 % y 94 % a las dosis de 15 mg/kg y 50 mg/kg dos veces al día, respectivamente. Además, 4 de 8 ratones del grupo de tratamiento con 50 mg/kg mostraron regresión tumoral. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados de los ratones, y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 6).

Ejemplo 11: Modelo de NIH3T3 EML4-ALK natural (NATURAL)

50 A ratones atímicos portadores de los tumores NIH3T3 EML4-ALK NATURAL (con un tamaño tumoral medio de 120 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 12 días (FIG. 7). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media \pm eem en la FIG. 7. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 50 mg/kg/dos veces al día dio como resultado una regresión tumoral del 41 %, mostrando 8 de 8 ratones una

regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg/dos veces al día mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 90 %, mostrando 2 de 8 ratones una regresión tumoral. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados de los ratones, y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 8).

5

Ejemplo 12: Modelo de NIH3T3 SDC4-ROS1 NATURAL

El gen de fusión SDC4-ROS 1 se considera el iniciador de la progresión tumoral en el NSCLC. A ratones atímicos portadores de los tumores NIH3T3 SDC4-ROS1 NATURAL (con un tamaño tumoral medio de 100 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 26 días (FIG. 9). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 9. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) a como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 50 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 69 %, mostrando 7 de 7 ratones una regresión tumoral. Los ratones del grupo con 15 mg/kg del Compuesto 1 también mostraron una regresión tumoral del 39 %, mostrando 7 de 8 ratones de este grupo una regresión tumoral.

10

15

Ejemplo 13: Modelo de cáncer colorrectal KM12

La actividad aberrante del TPM3-TRKA se considera el iniciador subyacente del crecimiento tumoral en el modelo KM12. A ratones atímicos portadores de los tumores KM12 (con un tamaño tumoral medio de 100 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante siete días (FIG. 10). El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 10. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, El Compuesto 1 a las dosis de 15 mg/kg y de 75 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 13 % y del 11 %, respectivamente. En el grupo con 15 mg/kg, 8 de 8 ratones mostraron regresión tumoral. En el grupo con 75 mg/kg, 5 de 8 ratones mostraron regresión tumoral. No se observó pérdida de peso corporal en los ratones tratados con el Compuesto 1 en comparación con los de control con vehículo (FIG. 11).

20

25

30

Ejemplo 14: Relación entre la inhibición de la ALK y la eficacia antitumoral después de la administración oral del Compuesto 1

Para evaluar el efecto del Compuesto 1 sobre la inhibición de la fosforilación de la ALK, se recogieron tumores Karpas 299 3 horas o 12 horas después de la última dosis del Compuesto 1 en un estudio de administración repetida (15 mg/kg o 50 mg/kg, dos veces al día durante siete 7 días). El nivel de fosforilación de la ALK se determinó mediante una inmunotransferencia combinada con la cuantificación de la señal con el Image Studio Digit Software. La capacidad del Compuesto 1 para inhibir la fosforilación de la ALK se ilustró en la FIG. 12. A la dosis de 50 mg/kg, la fosforilación de la ALK se redujo hasta <5 % del nivel de control 3 horas después de la administración oral del Compuesto 1, y se mantuvo aproximadamente a un 10 % del nivel de control 12 horas después de la administración. Este nivel de inhibición de la fosforilación se corresponde con una ICT del 94 %. A la dosis de 15 mg/kg, la fosforilación de la ALK se redujo hasta <10 % del nivel de control 3 horas después de la administración oral y se mantuvo aproximadamente a un 21 % del nivel de control 12 horas después de la administración. Este nivel de fosforilación de ALK se corresponde con una ICT del 59 %. Estos resultados respaldan la relación entre la inhibición de la ALK, el objetivo del Compuesto 1 y el grado de eficacia antitumoral en un modelo tumoral dependiente de NPM-ALK.

35

40

45

Ejemplo 15: Estudios dependientes de la dosis en un modelo de cáncer colorrectal KM12

Para investigar el efecto dependiente de la dosis del Compuesto 1 sobre la inhibición tumoral en el modelo de cáncer colorrectal KM12, a ratones atímicos portadores de los tumores KM12 (con un tamaño tumoral medio de 125 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante siete días a unas dosis iguales o inferiores a 15 mg/kg durante siete días (FIG. 13). El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 13. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, El Compuesto 1 inhibió el crecimiento tumoral de una forma dependiente de la dosis. El tratamiento con el Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 1 %, mostrando 5 de 10 ratones una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 3 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 91 %, mostrando 2 de 10 ratones una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 1 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 77 %. No se observó pérdida de peso corporal en los ratones tratados con el Compuesto 1 en comparación con los de control con vehículo (FIG. 14).

50

55

60

Ejemplo 16: Modelo Ba/F3 EML4-ALK NATURAL

65

A ratones SCID/Beige portadores de los tumores Ba/F3 EML4-ALK NATURAL (con un tamaño tumoral medio de 190 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 14 días (FIG. 15). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 15. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 75 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 54 %, mostrando 6 de 8 ratones una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg/dos veces al día mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 74 %. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 16).

Ejemplo 17: Modelo Ba/F3 EML4-ALK G1202R

Para investigar el efecto del Compuesto 1 sobre la inhibición del crecimiento de tumores que contienen las mutaciones del frente disolvente resistentes a fármacos, a ratones SCID/Beige portadores de los tumores Ba/F3 EML4-ALK G1202R (con un tamaño tumoral medio de 210 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 17 días (FIG. 17). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 17. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento del Compuesto 1 a 75 mg/kg dio como resultado la inhibición del crecimiento tumoral con una ICT del 99 %. 4 de 8 ratones mostraron regresión tumoral en este grupo. El Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 56 %. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 18).

Ejemplo 18: Modelo Ba/F3 CD74-ROS1 NATURAL

El gen de fusión CD74-ROS 1 se considera uno de los iniciadores de la progresión tumoral en el NSCLC. A ratones SCID/Beige portadores de los tumores Ba/F3 CD74-ROS1 NATURAL (con un tamaño tumoral medio de 200 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 12 días (FIG. 19). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 19. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) a como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 75 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 100 %, mostrando 8 de 8 ratones una regresión tumoral completa. Los ratones del grupo con 15 mg/kg del Compuesto 1 también mostraron una regresión tumoral del 97 %, mostrando 8 de 8 ratones de este grupo una regresión tumoral. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 20).

Ejemplo 19: Modelo Ba/F3 CD74-ROS1 G2032R

Para investigar el efecto del Compuesto 1 sobre la inhibición del crecimiento de tumores que contienen las mutaciones del frente disolvente resistentes a fármacos, a ratones SCID/Beige portadores de los tumores Ba/F3 CD74-ROS1 G2032R (con un tamaño tumoral medio de 210 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante 11 días (FIG. 21). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 21. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) a como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 75 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 100 %, mostrando 8 de 8 ratones una regresión tumoral completa. El Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg/dos veces al día mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 99 %, mostrando 2 de 8 ratones de este grupo una regresión tumoral. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 22).

Ejemplo 20: Modelo NIH3T3 LMNA-TRKA NATURAL

El gen de fusión LMNA-TRKA se considera uno de los iniciadores de la progresión tumoral en el Cáncer colorrectal. A ratones atímicos portadores de los tumores NIH3T3 LMNA-TRKA NATURAL (con un tamaño tumoral medio de 240 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante cinco días (FIG. 23). El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media ± eem en la FIG. 23. Un * indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 28 %, mostrando 7 de 8 ratones una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 3 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 100 %, mostrando 3 de 8 ratones una

regresión tumoral. No se observó pérdida de peso corporal en los ratones tratados con el Compuesto 1 en comparación con los de control con vehículo (FIG. 24).

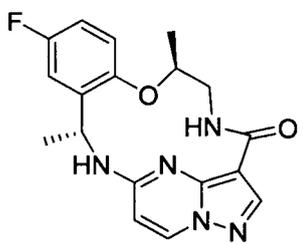
Ejemplo 21: Modelo NIH3T3 LMNA-TRKA G595R

5 Para investigar el efecto del Compuesto 1 sobre la inhibición del crecimiento de tumores que contienen las mutaciones del frente disolvente resistentes a fármacos, a ratones atímicos portadores de los tumores NIH3T3 LMNA-TRKA G595R (con un tamaño tumoral medio de 230 mm³) se les administró el Compuesto 1 por vía oral dos veces al día durante cinco días (FIG. 25). Al grupo de ratones de control solo se les administró vehículo. El volumen tumoral (VTM) se midió con un calibre los días indicados y se muestra como la media \pm eem en la FIG. 25. Un *
10 indica que los volúmenes tumorales medios son significativamente menores en el grupo tratado en comparación con los del grupo de control ($p < 0,05$) a como se determina mediante un ANOVA bifactorial repetido seguido por un análisis *a posteriori*. En este estudio, el tratamiento con el Compuesto 1 a 60 mg/kg dio como resultado una regresión tumoral del 23 %, mostrando 10 de 10 ratones una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 15 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 97 %, mostrando 3 de 8 ratones de este grupo una regresión tumoral. El Compuesto 1 a la dosis de 3 mg/kg mostró la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral con una ICT del 56 %. El peso corporal de los ratones se midió los días indicados y no se observó pérdida de peso corporal en los grupos de tratamiento con el Compuesto 1 (FIG. 26).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto (7S,13R)-11-fluoro-7,13-dimetil-6,7,13,14-tetrahidro-1,15-etenopirazolo[4,3-*f*][1,4,8,10]benzoxatriazacodotridecin-4(5*H*)-ona, que tiene la fórmula

5



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para su uso en el tratamiento del cáncer en un paciente, en donde el cáncer está mediado por una proteína de fusión que comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ROS1 y un fragmento de una proteína codificada por un gen seleccionado del grupo que consiste en FIG, TPM3, SDC4, SLC34A2, CD74, EZR y LRIG3.

10

2. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la proteína de fusión comprende un fragmento de una proteína codificada por un gen ROS1 y un fragmento de una proteína codificada por un gen CD74.

15

3. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ROS1 es un ROS1 alterado genéticamente que es una proteína de fusión CD74-ROS1; o una proteína de fusión SDC4-ROS1; o una proteína de fusión SLC34A2-ROS1.

20

4. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión CD74-ROS1 es una proteína natural.

5. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende al menos una mutación de resistencia.

25

6. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión CD74-ROS1 comprende una mutación puntual G2032R, L2026M o D2033N.

30

7. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SDC4-ROS1 es una proteína natural.

8. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SDC4-ROS1 comprende al menos una mutación de resistencia.

35

9. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SDC4-ROS1 comprende una mutación puntual G2032R.

10. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SLC34A2-ROS1 es una proteína natural.

40

11. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SLC34A2-ROS1 comprende al menos una mutación de resistencia.

12. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la proteína de fusión SLC34A2-ROS1 comprende una mutación puntual G2032R.

45

13. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en glioblastoma, glioblastoma multiforme, NSCLC, colangiocarcinoma, cáncer de ovario, adenocarcinoma gástrico, cáncer colorrectal, tumor miofibroblástico inflamatorio, angiosarcoma y hemangiendotelioma epitelioide; o el cáncer es NSCLC.

50

FIG. 1

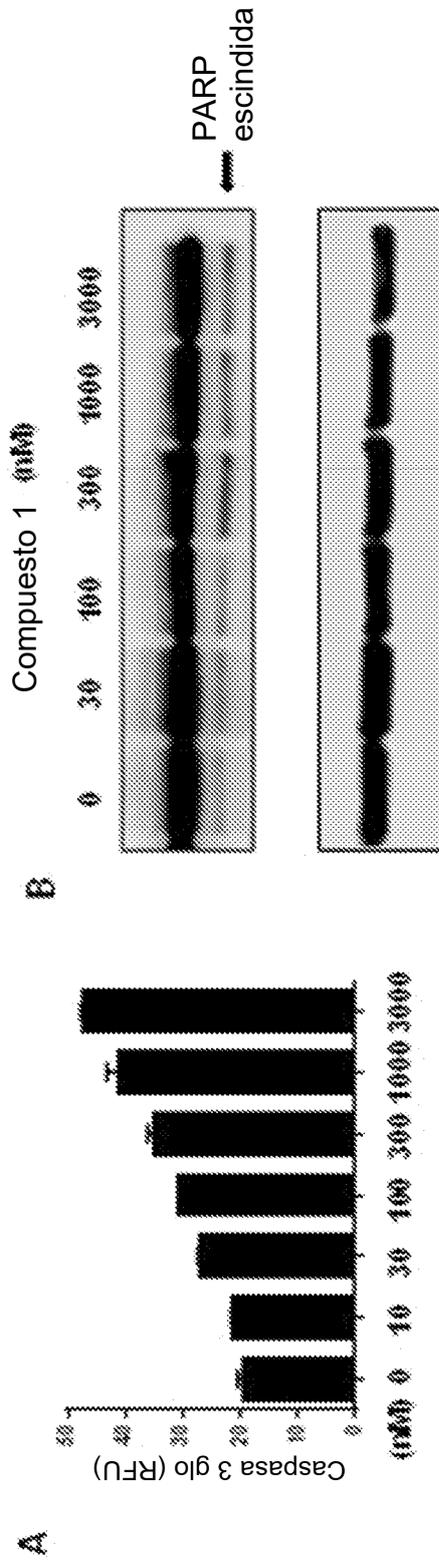


FIG. 2

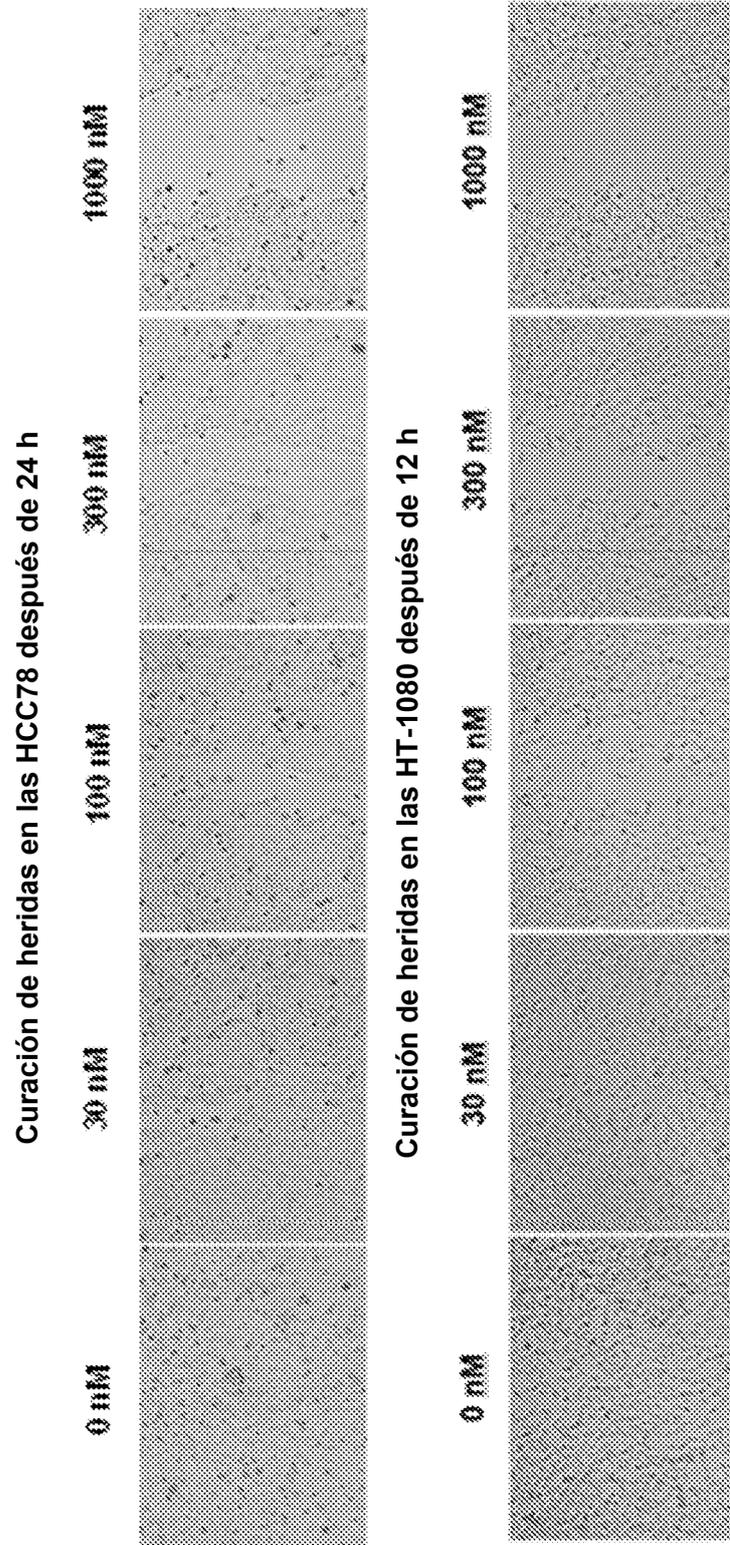


FIG. 3

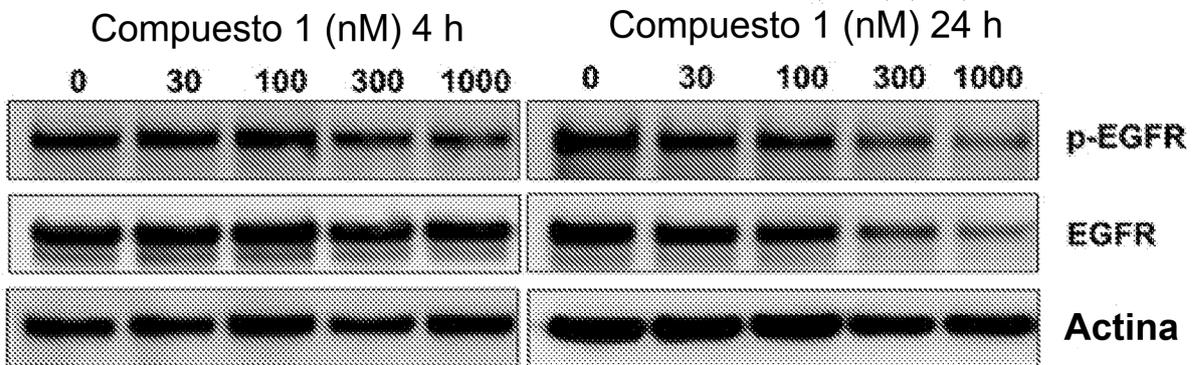


FIG. 4

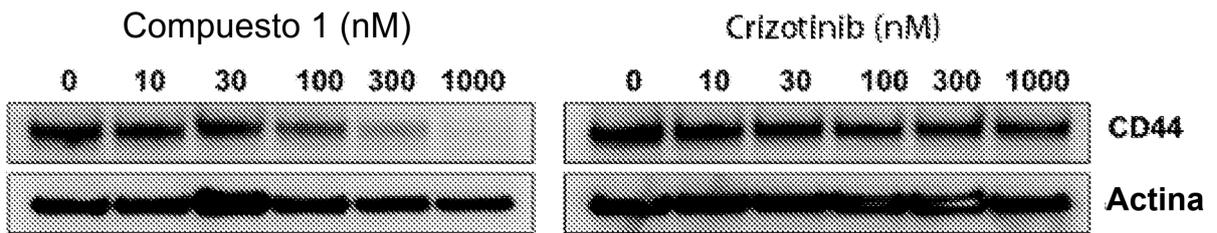


FIG. 5

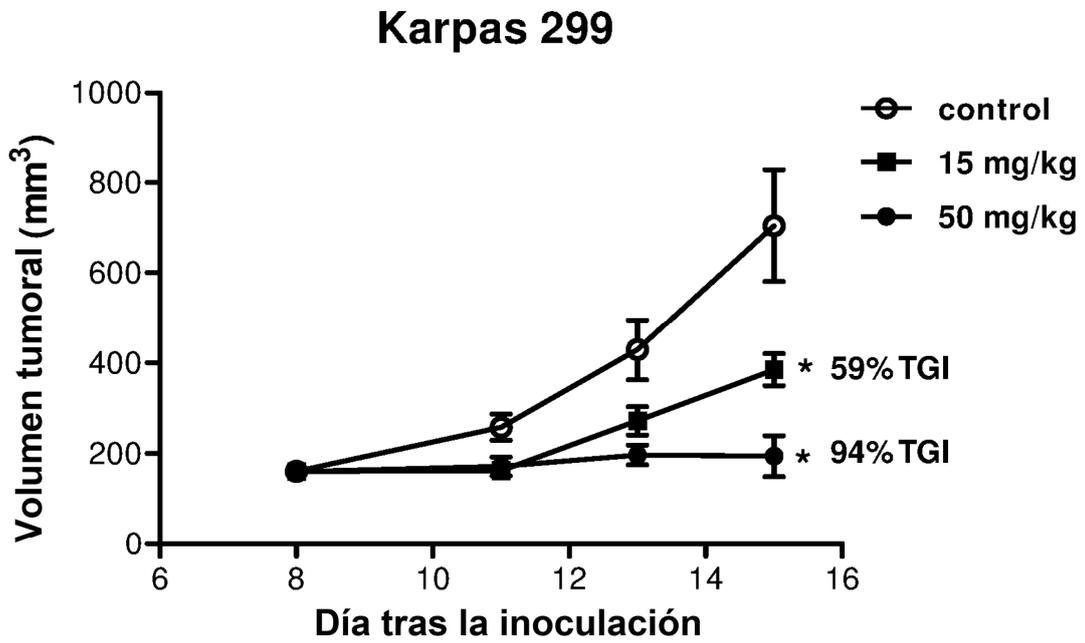


FIG. 6

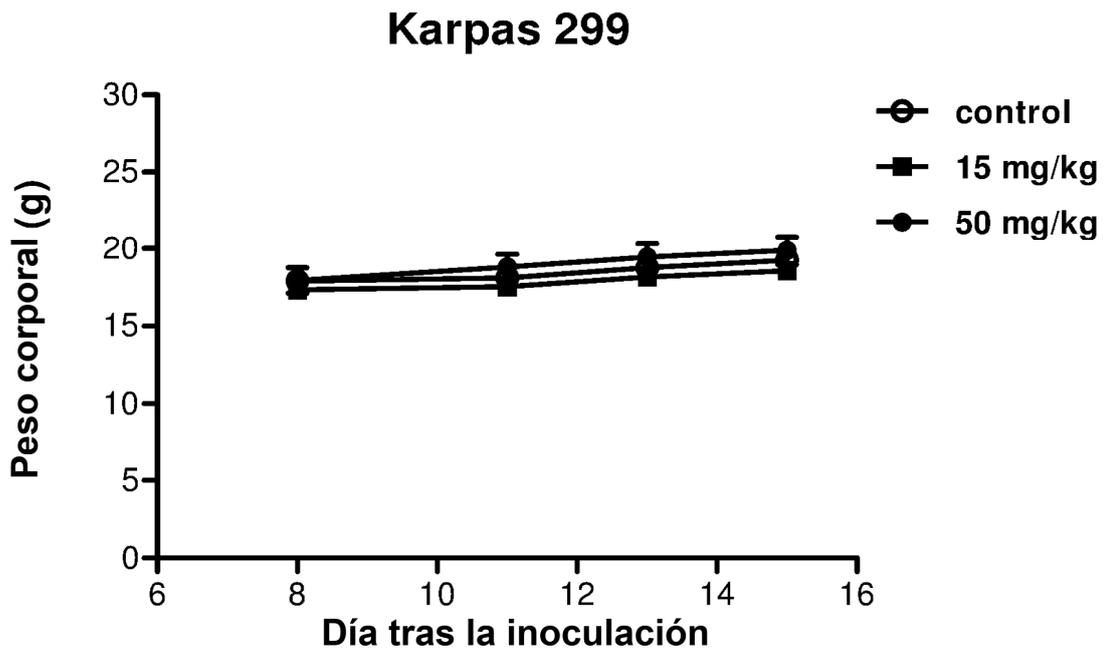


FIG. 7

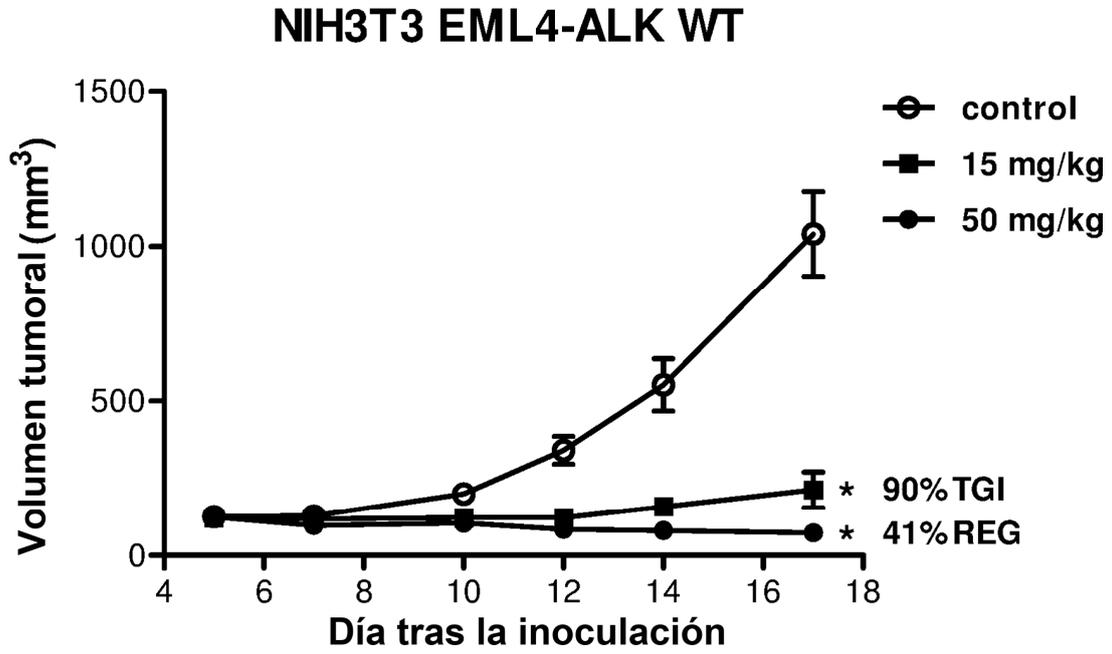


FIG. 8

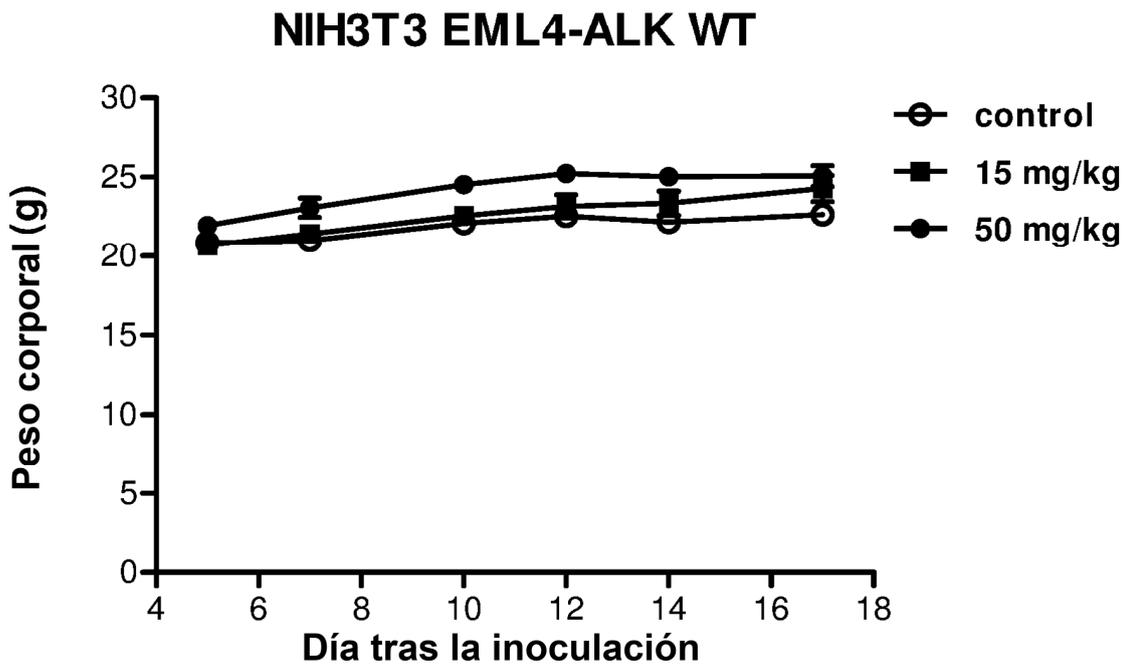


FIG. 9

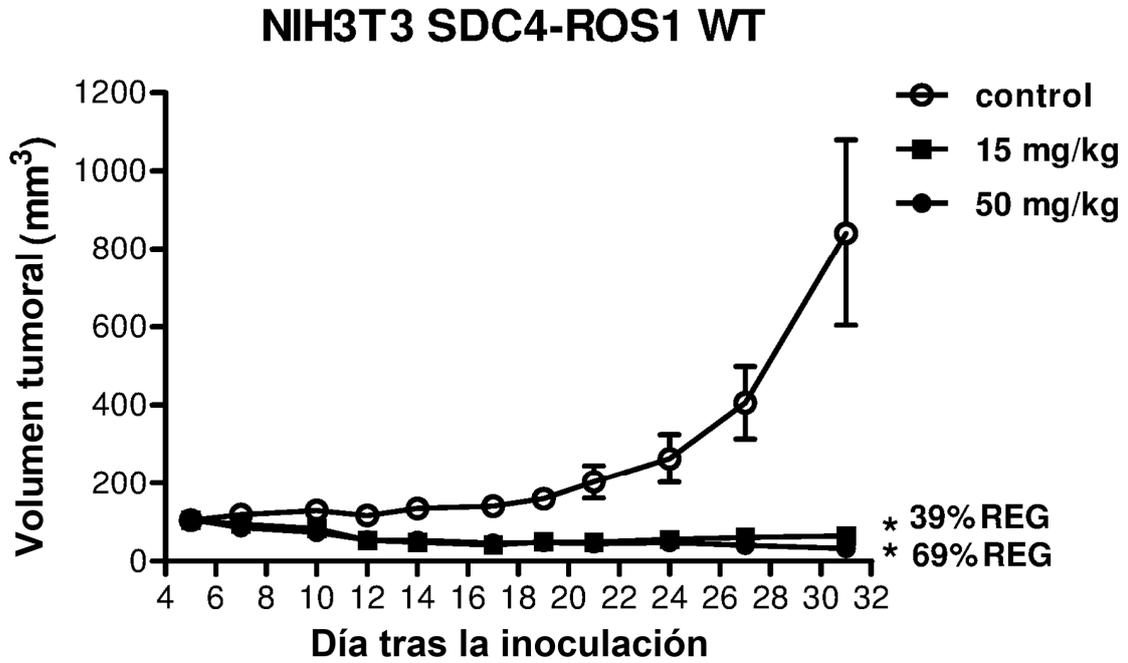


FIG. 10

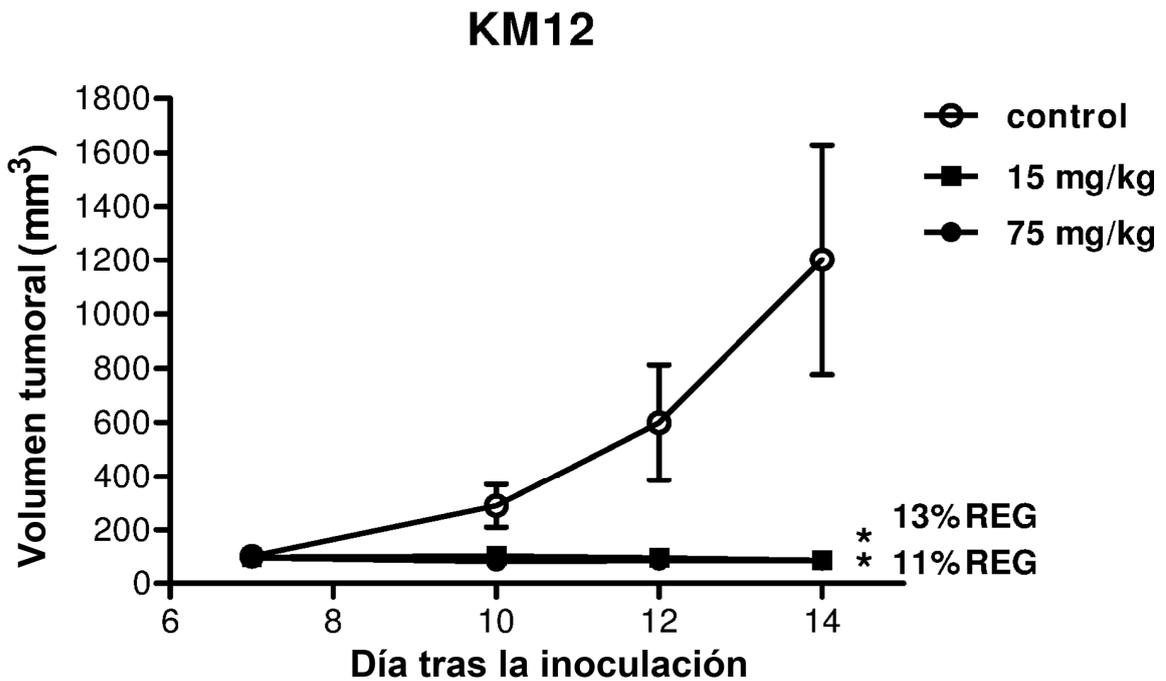


FIG. 11

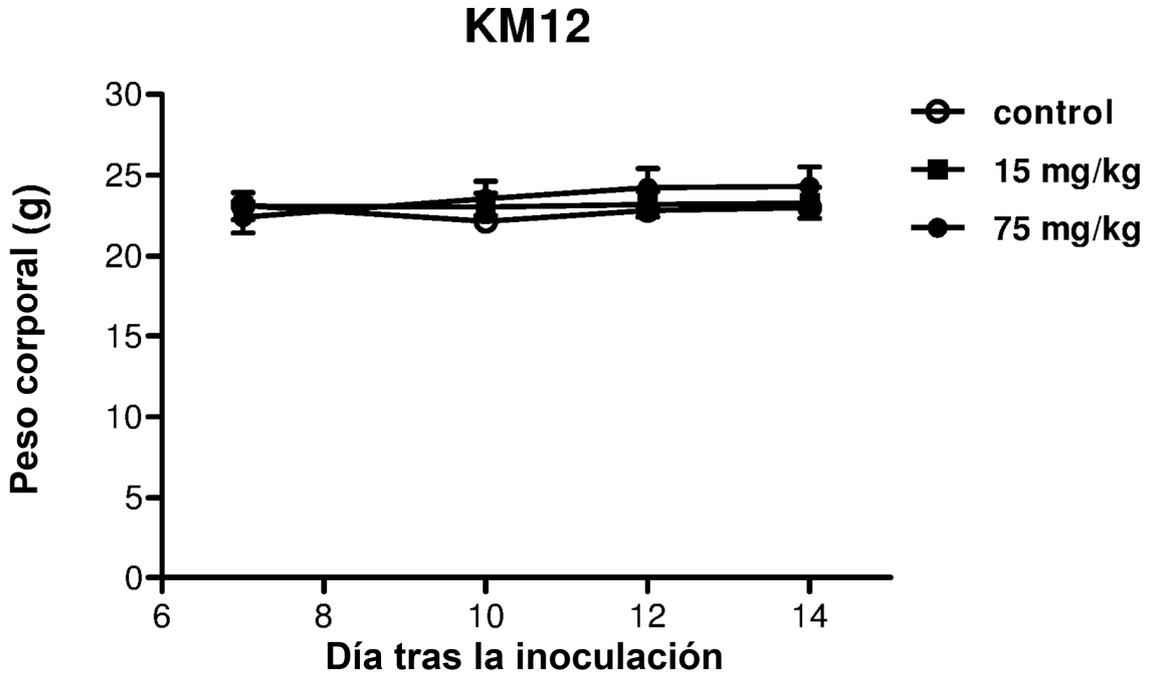


FIG. 12

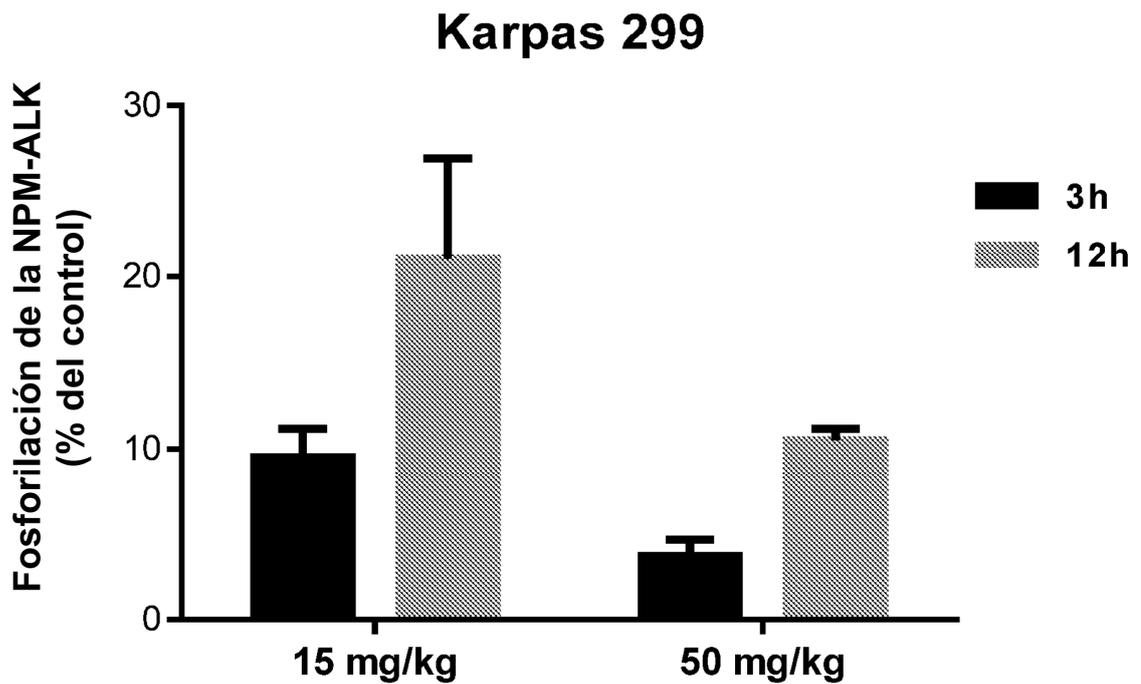


FIG. 13

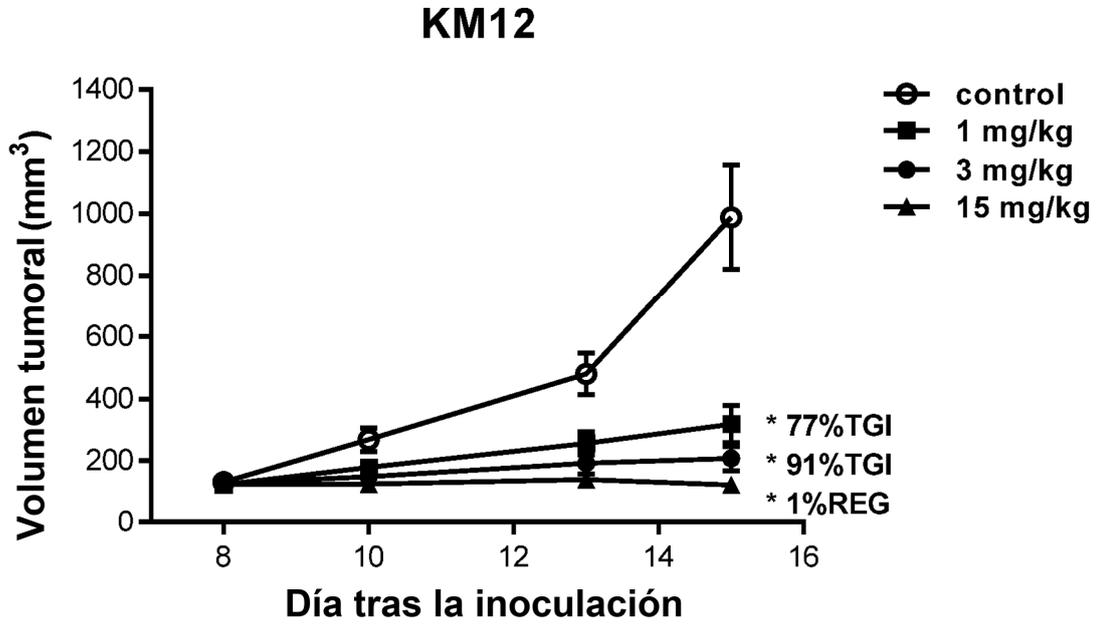


FIG. 14

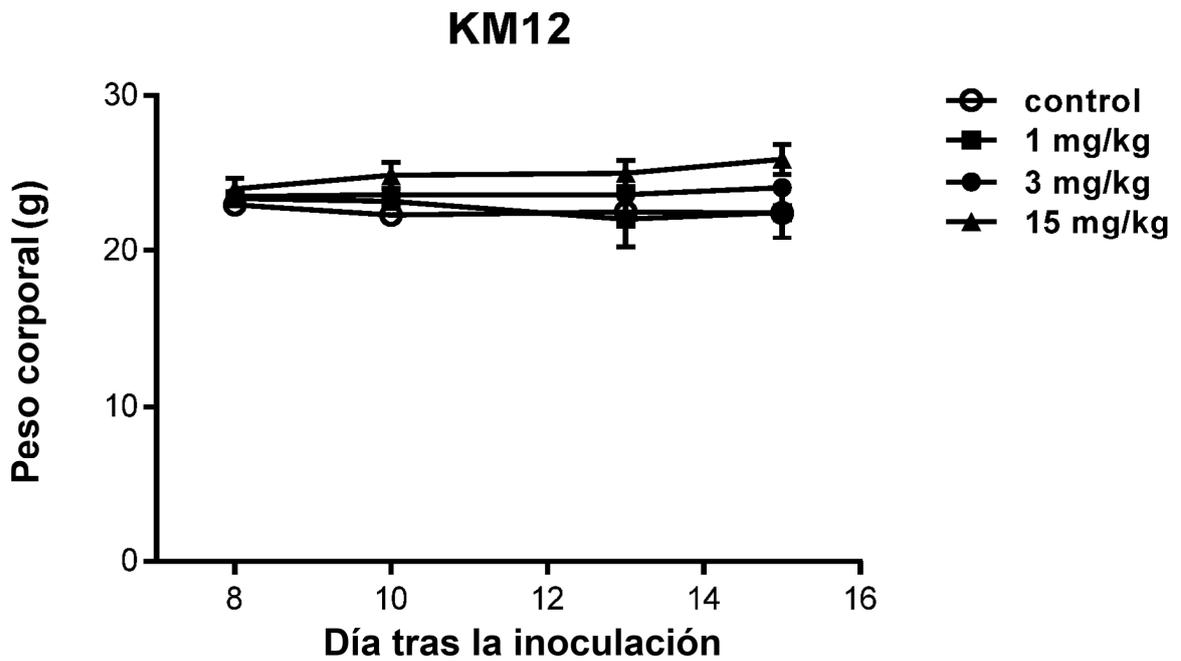


FIG. 15

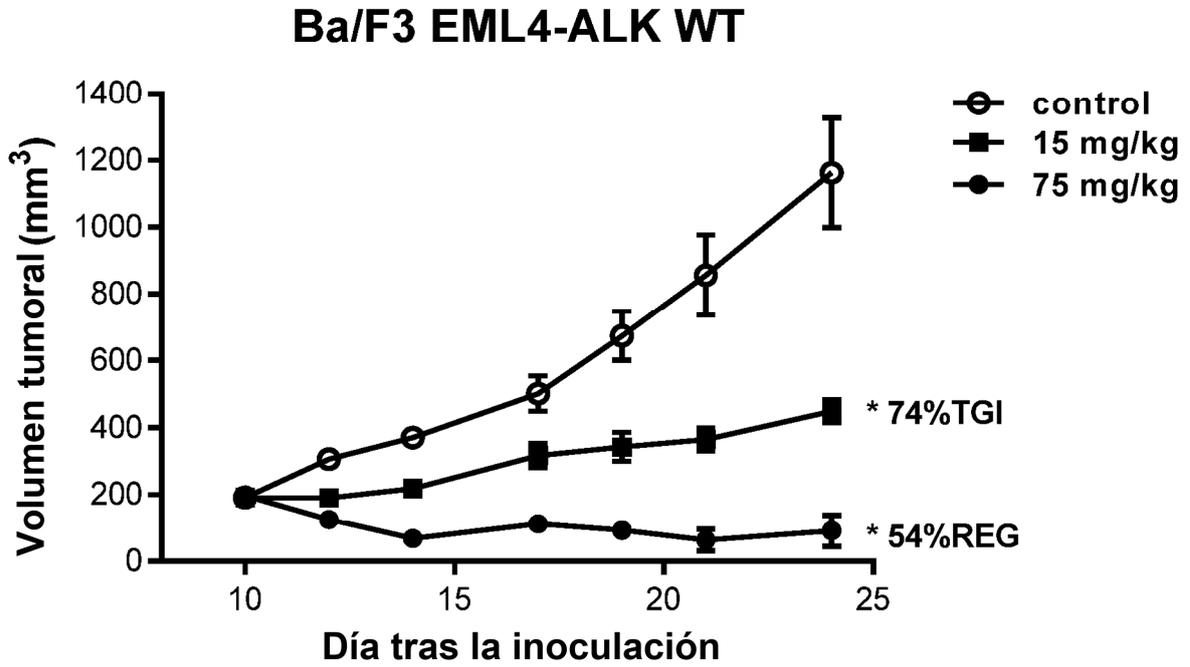


FIG. 16

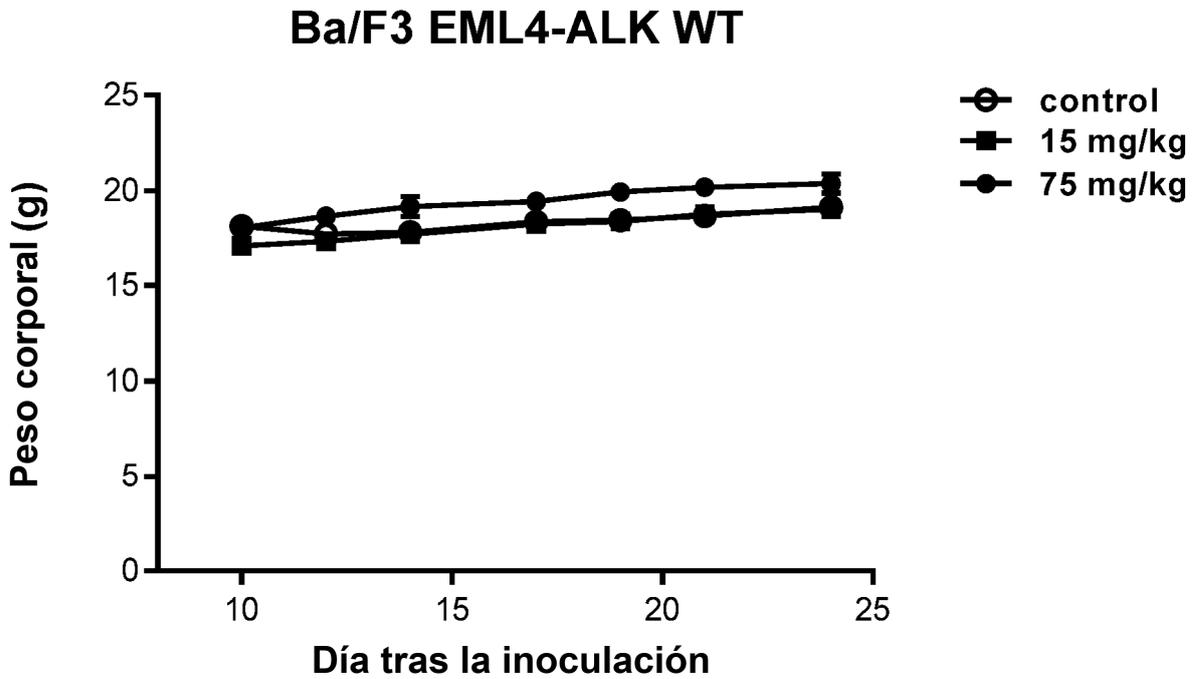


FIG. 17

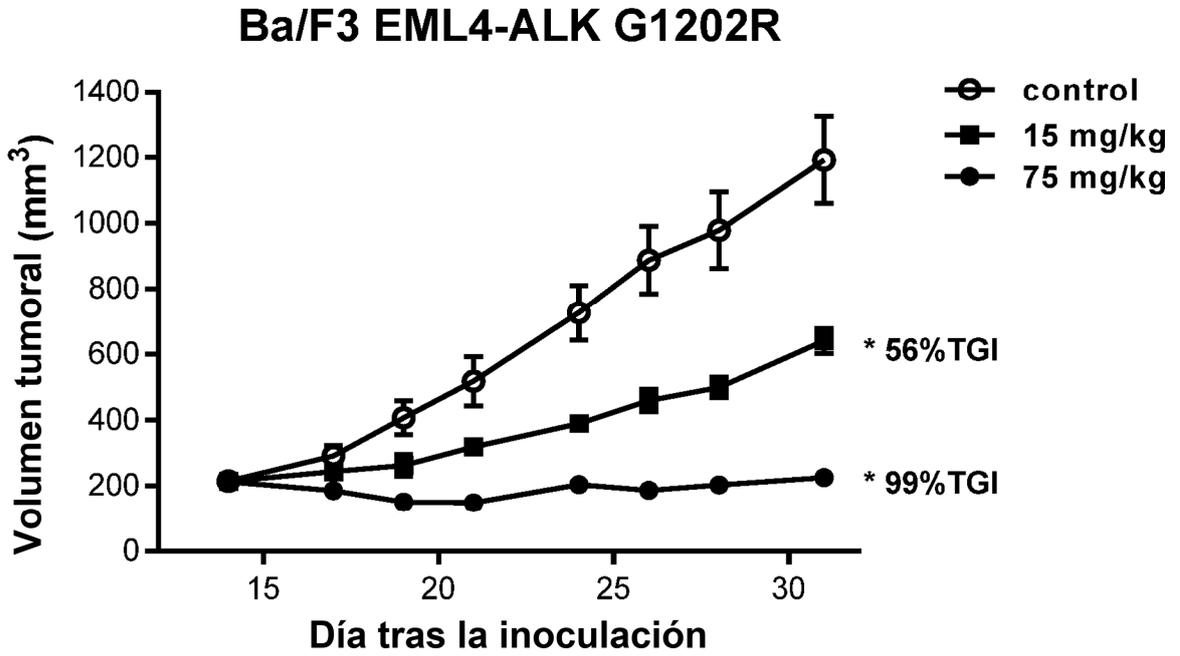


FIG. 18

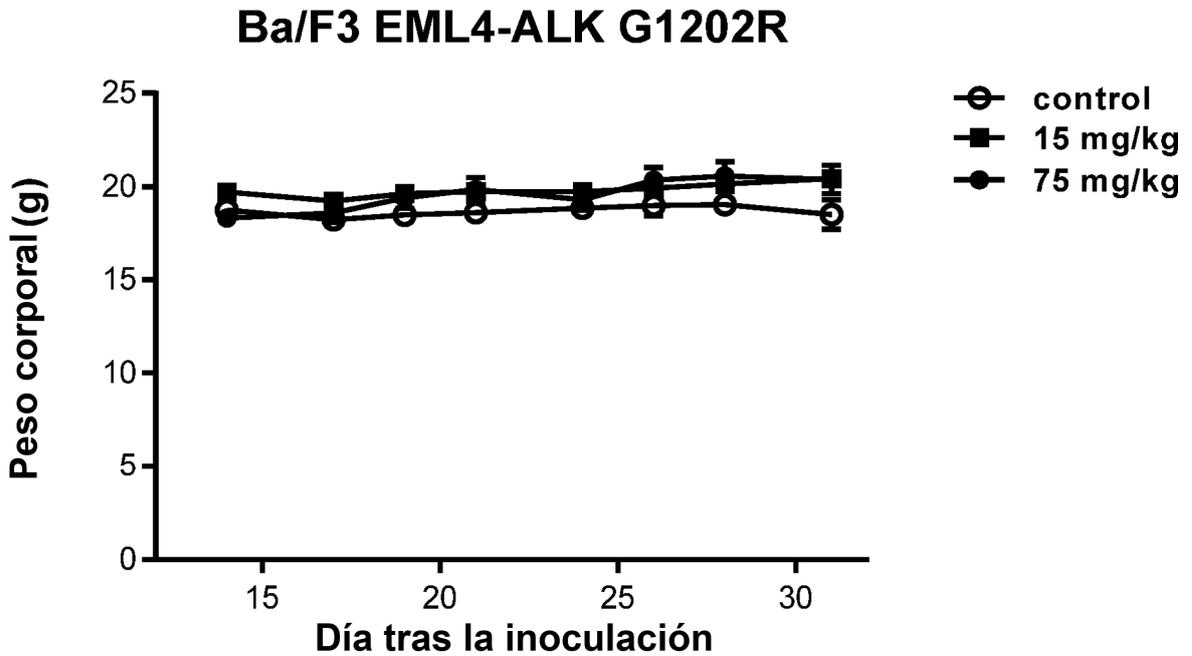


FIG. 19

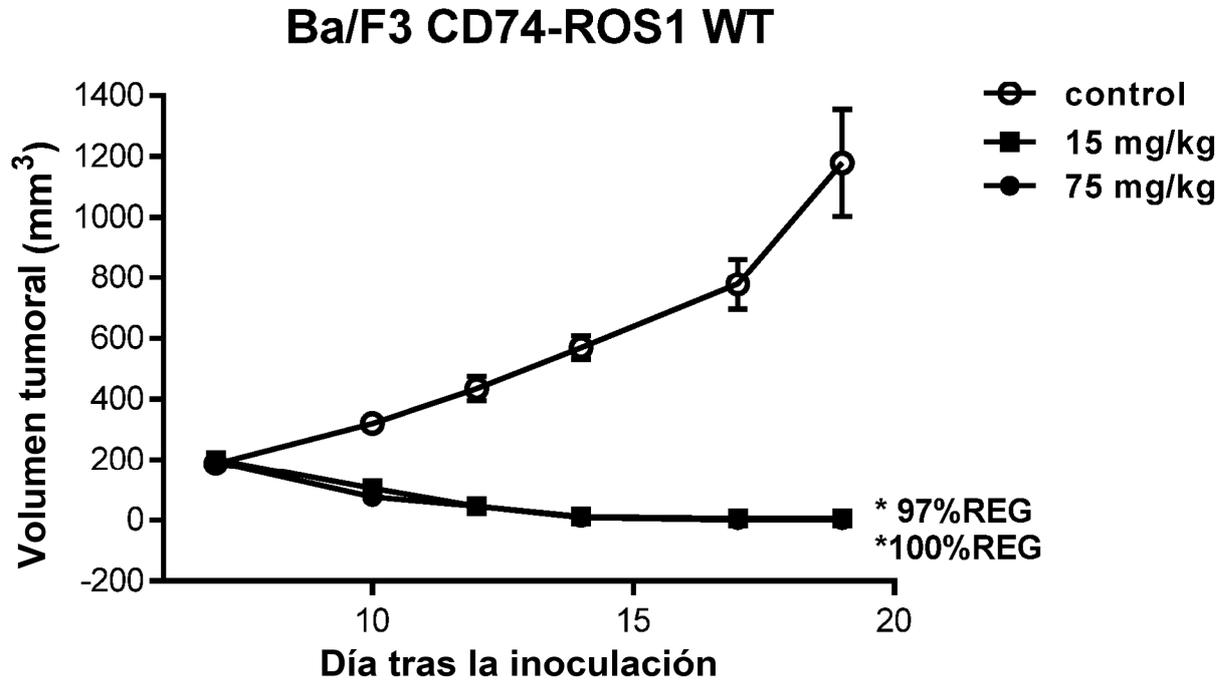


FIG. 20

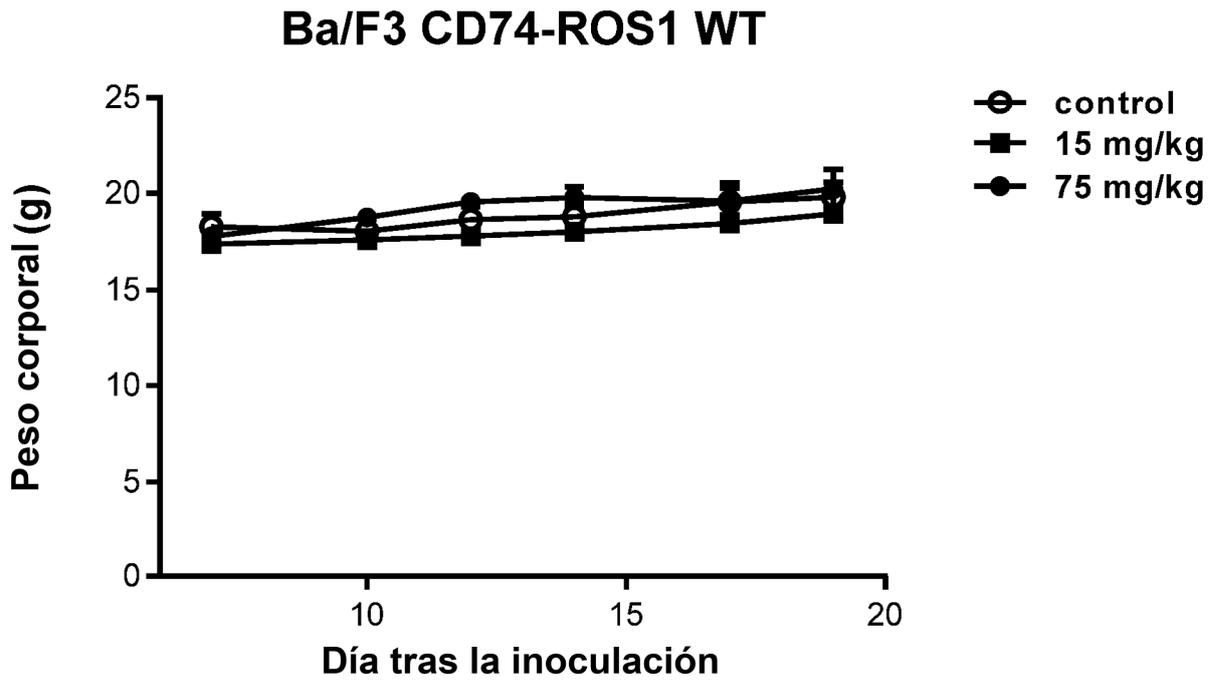


FIG. 21

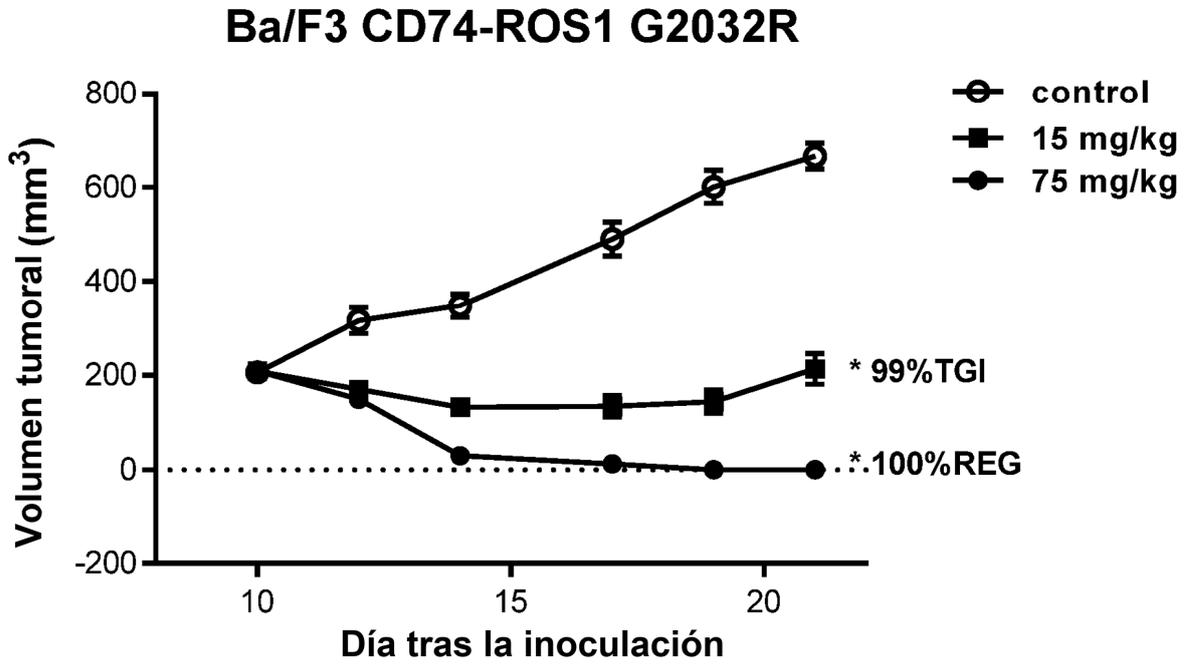


FIG. 22

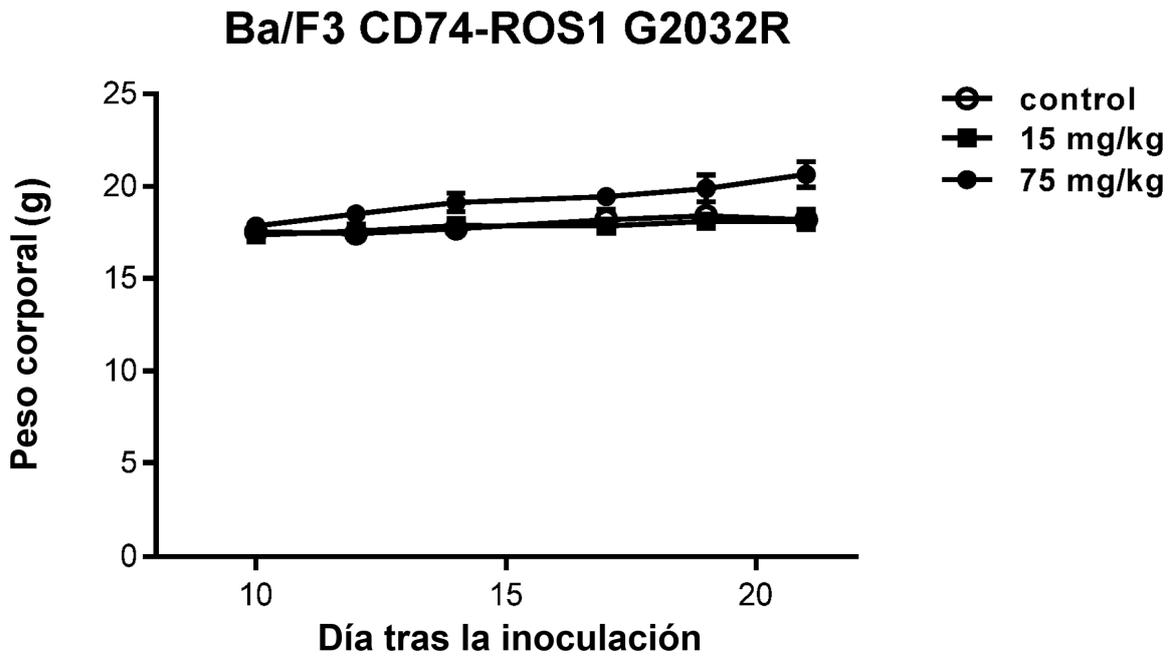


FIG. 23

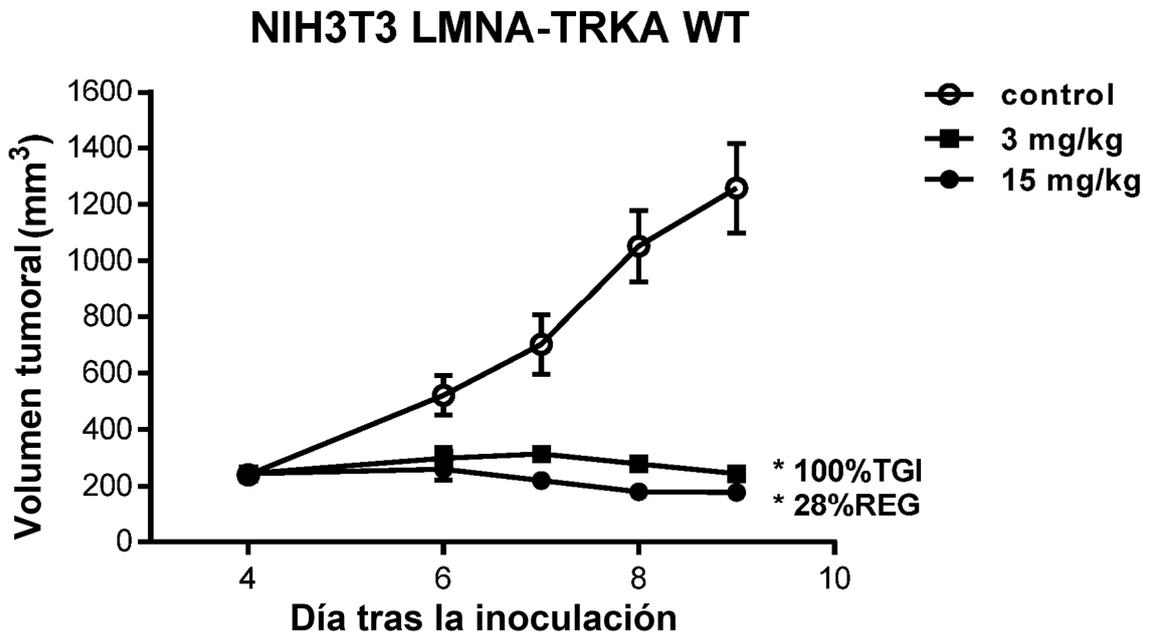


FIG. 24

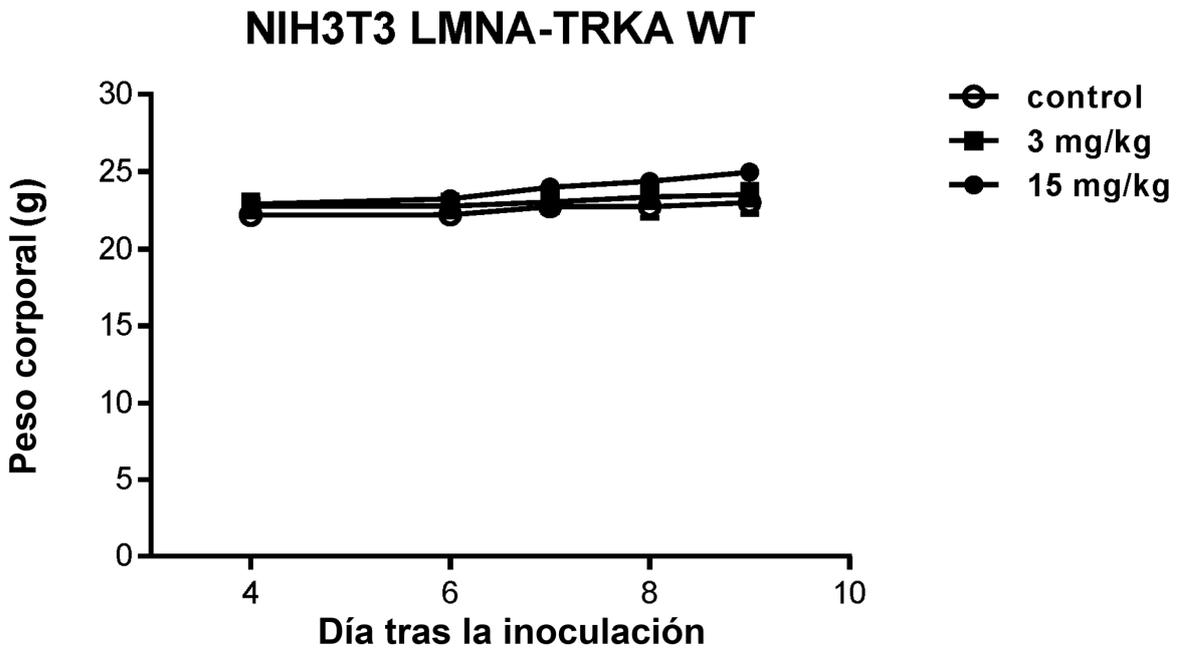


FIG. 25

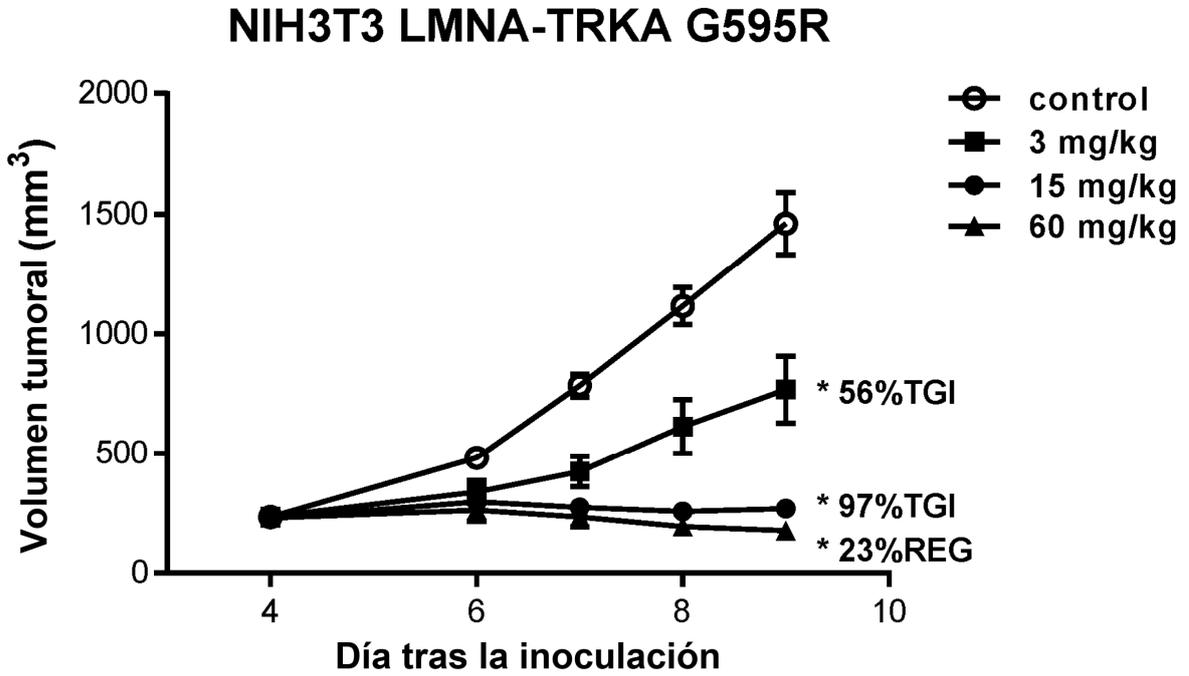


FIG. 26

