

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 682 108**

51 Int. Cl.:

C07D 213/56 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.05.2008 PCT/US2008/006419**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.11.2008 WO08144045**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2008 E 08754559 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 2155681**

54 Título: **Proceso para la preparación de composiciones para modular una cascada de quinasas y métodos de uso de estas**

30 Prioridad:

17.05.2007 US 930758 P
28.12.2007 US 5792

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.09.2018

73 Titular/es:

ATHENEX, INC. (100.0%)
Conventus Building 1001 Main Street Suite 600
Buffalo, NY 14203, US

72 Inventor/es:

HANGAUER, DAVID, G., JR.;
COUGHLIN, DANIEL;
CODY, JEREMY, A.;
GALE, JONATHAN;
PATRA, DEBASIS;
PALMER, GRANT, J.;
SALSBURY, JONATHON y
ISBESTER, PAUL, K.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 682 108 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

Proceso para la preparación de composiciones para modular una cascada de quinasas y métodos de uso de estas

5 Solicitudes relacionadas

Esta aplicación reivindica la prioridad para la patente provisional de los Estados Unidos número de serie 60/930,758, presentada el 17 de mayo de 2007 y es una continuación en parte de la solicitud de los Estados Unidos número de serie 12/005,792, presentada el 28 de diciembre de 2007.

10

Campo de la invención

15 La presente invención se refiere a composiciones y procesos para la síntesis de sales de mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391) sustancialmente puras. La invención se refiere, además, a métodos para usar tales composiciones.

Antecedentes de la invención

20 La transducción de señales es cualquier proceso mediante el cual una célula convierte un tipo de señal o estímulo en otro. Los procesos denominados transducción de señales frecuentemente implican una secuencia de reacciones bioquímicas dentro de la célula, que se llevan a cabo por enzimas y se relacionan a través de segundos mensajeros. En muchos procesos de transducción, un número creciente de enzimas y otras moléculas se involucran en los eventos que suceden a partir del estímulo inicial. En tales casos, la cadena de etapas se denomina "cascada de señalización" o "vía del segundo mensajero" y frecuentemente da como resultado un pequeño estímulo que provoca una gran respuesta. Una clase de moléculas implicadas en la transducción de señales es la familia de las enzimas quinasas. El grupo más grande de quinasas son las proteínas quinasas, que actúan y modifican la actividad de proteínas específicas. Estas se usan ampliamente para transmitir señales y controlar procesos complejos en las células.

25

30 Las proteínas quinasas son una gran clase de enzimas que catalizan la transferencia del γ -fosfato del ATP al grupo hidroxilo en la cadena lateral de la Ser/Thr o Tyr en proteínas y péptidos y están implicadas íntimamente en el control de varias funciones celulares importantes, tal vez las más notables: transducción de señales, diferenciación y proliferación. Se estima que existen aproximadamente 2000 proteínas quinasas distintas en el cuerpo humano, y aunque cada una de estas fosforilan sustratos proteicos/peptídicos particulares, todas se unen al mismo segundo sustrato, el ATP, en un bolsillo altamente conservado. Las proteínas fosfatasa catalizan la transferencia de fosfato en la dirección opuesta.

35

40 Una tirosina quinasa es una enzima que puede transferir un grupo fosfato del ATP a un residuo de tirosina en una proteína. La fosforilación de proteínas por quinasas es un mecanismo importante en la transducción de señales para la regulación de la actividad enzimática. Las tirosina quinasas se dividen en dos grupos; las que son proteínas citoplásmicas y las quinasas ligadas a receptores de transmembrana. En humanos, existen 32 proteínas tirosina quinasas citoplásmicas y 58 proteínas tirosina quinasas ligadas a receptores. Las hormonas y factores de crecimiento que actúan sobre los receptores ligados a tirosinas quinasas de la superficie celular generalmente promueven el crecimiento y funcionan para estimular la división celular (por ejemplo, insulina, factor de crecimiento similar a insulina 1, factor de crecimiento epidérmico).

40

45 Los inhibidores de diversas proteínas quinasas o proteínas fosfatasa conocidas tienen una variedad de aplicaciones terapéuticas. Un posible uso terapéutico prometedor para los inhibidores de proteínas quinasas o proteínas fosfatasa es como agentes anticancerígenos. Aproximadamente el 50 % de los productos oncogénicos conocidos son proteínas tirosina quinasas (PTK) y se demostró que su actividad quinasa conduce a la transformación celular.

45

50 Las PTK pueden clasificarse en dos categorías, las PTK receptoras de membrana (por ejemplo, las PTK receptoras de factor de crecimiento) y las PTK no receptoras (por ejemplo, la familia Src de productos protooncogénicos). Existen al menos 9 miembros de la familia Src de las PTK no receptoras con pp60^{c-src} (de aquí en adelante denominada simplemente "Src") es el prototipo PTK de la familia en donde los dominios catalíticos de aproximadamente 300 aminoácidos son altamente conservados. La hiperactivación de Src se ha informado en una serie de cánceres humanos, que incluyen los de colon, mama, pulmón, vejiga y piel, así como en cáncer gástrico, leucemia de células pilosas y neuroblastoma. Las señales de proliferación celular sobreestimuladas desde los receptores de transmembrana (por ejemplo, EGFR y p185HER2/Neu) al interior de la célula parecen pasar, además, a través de Src. Consecuentemente, se ha propuesto recientemente que Src es un objetivo universal para la terapia contra el cáncer, porque la hiperactivación (sin mutación) está implicada en la iniciación, progresión y metástasis del tumor para muchos tipos de tumores humanos importantes.

55

60 Debido a que las quinasas están implicadas en la regulación de una amplia variedad de vías de transducción de señales celulares normales (por ejemplo, crecimiento celular, diferenciación, supervivencia, adhesión, migración, etc.), se piensa que las quinasas desempeñan una función en una variedad de enfermedades y trastornos. Así, la modulación de las cascadas de señalización de quinasas puede ser una vía importante de tratar o prevenir

60

65 Recientemente se ha publicado una síntesis a pequeña escala de KX2-391. (documento US20060160800A1). Esta síntesis no es práctica para producir grandes cantidades del compuesto y el producto resultante sufre contaminación con

65

cloruro de etilo, que se conoce que es un agente alquilante débil. Así, la presencia de cloruro de etilo a niveles suficientemente altos limita la eficacia farmacéutica de las composiciones de KX2-391.

5 Por consiguiente, existe una necesidad de una vía mejorada de síntesis para KX2-391 que sea susceptible para la producción comercial, que sea segura y simple y que produzca KX2-391 y sus sales a gran escala con alto rendimiento y que sea sustancialmente puro.

Resumen de la invención

10 Los compuestos de la invención son útiles en la modulación de un componente de la cascada de señalización de quinasas. Algunos compuestos pueden ser útiles en la modulación de más de un componente de una cascada de señalización de quinasas. Los compuestos de la presente invención son útiles como agentes farmacéuticos. Los compuestos de la invención pueden ser útiles para modular la regulación de una quinasa que puede participar en una vía de transducción de señales celulares normal (por ejemplo, crecimiento celular, diferenciación, supervivencia, adhesión, migración, etc.) o una quinasa implicada en una enfermedad o trastorno.

15 En un aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende sal de mesilato de KX2-391, en donde la sal de mesilato de KX2-391 tiene una pureza superior al 98,0 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 % o 99,7 % según se determina mediante HPLC. En una modalidad, la composición contiene menos del 2 % de una impureza que se selecciona de entre cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol, paladio y combinaciones de estos. En otra modalidad, la composición comprende, además, un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 La composición puede usarse para modular uno o más componentes de una cascada de señalización de proteínas quinasas. El componente de la cascada de quinasas puede ser responsable de la manifestación de una enfermedad o trastorno que se selecciona de entre trastornos hiperproliferativos, cánceres, precánceres, osteoporosis, trastornos cardiovasculares, disfunción del sistema inmunitario, diabetes tipo II, obesidad, pérdida de audición y rechazo de trasplantes. Por ejemplo, la composición puede inhibir una quinasa que se selecciona de entre una proteína quinasa de la familia Src, una quinasa de adhesión focal y una tirosina quinasa. La tirosina quinasa puede ser una proteína quinasa de la familia Src. La composición puede administrarse oralmente o tópicamente.

25 La invención proporciona, además, una composición de la invención para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno que se selecciona de entre trastornos de proliferación celular, trastornos hiperproliferativos, cánceres, precánceres, osteoporosis, trastornos cardiovasculares, disfunción del sistema inmunitario, diabetes tipo II, obesidad, pérdida de la audición, derrame, enfermedad oftálmica, aterosclerosis, dolor neuropático, hepatitis B, enfermedad autoinmunitaria y rechazo de trasplantes. Por ejemplo, el cáncer puede ser cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cerebral, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de pulmón o cáncer de próstata. En una modalidad, el cáncer es melanoma maligno, cáncer de piel, cáncer de piel no melanoma, tumor hematológico, neoplasia maligna hematológica, leucemia infantil, linfoma, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, linfoma de origen linfocítico, linfoma de origen cutáneo, leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfoblástica, leucemia mielocítica aguda, leucemia mielocítica crónica, neoplasia de células plasmáticas, neoplasia linfoide o un cáncer asociado con el SIDA. En una modalidad, la enfermedad oftálmica es degeneración macular, retinopatía o edema macular. En una modalidad, la enfermedad autoinmunitaria es artritis reumatoide, esclerosis múltiple o lupus.

30 En otro aspecto, la invención se refiere a un proceso para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida que comprende la etapa de poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida.

35 En una modalidad, el proceso para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida comprende las etapas de:

- (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina;
- (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina;
- 40 (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
- (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
- (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida; y
- 50 (6) poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida.

55 La descripción anterior expone ampliamente las características más importantes de la presente invención para que pueda comprenderse la descripción detallada de la misma a continuación, y para que las presentes contribuciones a la técnica puedan apreciarse mejor. Otros objetos y características de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada considerada junto con los ejemplos.

En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de:

- 5 (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina;
- (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina;
- (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
- 10 (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; y
- (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

15 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

20 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; y hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

25 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato en metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; y hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

30 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina; hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato en metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; y hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

35 40 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina.

45 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina.

50 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato.

55 En la presente descripción se analiza, además, un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato.

60 El mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida puede prepararse, además, mediante el uso de cualquiera de los procesos descritos anteriormente para preparar KX2-391 y después poner en contacto la 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida mesilato.

Breve descripción de las figuras

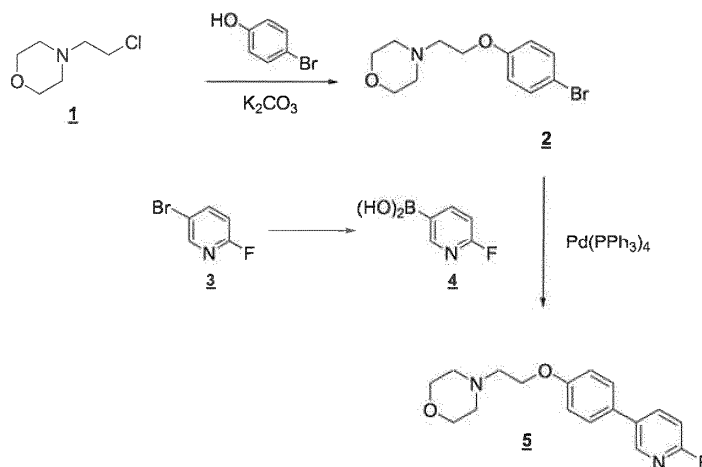
- 60 La Figura 1 es un gráfico que indica la DSC de KX2-391·2HCl lote 02BP11 IF.
- La Figura 2 es un gráfico que indica la DSC de KX2-391·2HCl lote 02BP111E.
- La Figura 3 es un gráfico que indica la XRPD de KX2-391·2HCl lote 02BP111E.
- La Figura 4 es un gráfico que indica la XRPD de KX2-391·2HCl lote 02BP111F.
- 65 La Figura 5 es un espectro de 1H RMN de KX2-391 (lote 02BP096K).
- La Figura 6 es un espectro de 1H NMR de KX2-391·MSA

Descripción detallada de la invención

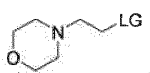
Los detalles de una o más modalidades de la invención se establecen en la siguiente descripción a continuación. Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o las pruebas de la presente invención, los materiales y métodos preferidos se describen ahora. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción. En la descripción, las formas singulares incluyen, además, el plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se especifique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente descripción tienen el mismo significado que el conocido comúnmente por aquellos con experiencia en la técnica a la que pertenece esta invención. En el caso de conflicto, la presente descripción controlará.

Preparación de KX2-391 y sus sales

La síntesis de 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina se muestra en el esquema a continuación:



Se sintetizó 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5) en 3 etapas. El producto intermedio 2 se sintetizó mediante el uso de una reacción de acoplamiento con éter, *por ejemplo*, mediante el uso de la síntesis de éter de Williamson. La formación de éter entre 4-(2-cloroetil)morfolina (1) y 4-bromofenol se llevó a cabo en presencia de carbonato de potasio y DMF para proporcionar 4-(2-(4-bromofenoxy)etil)morfolina (2). Las condiciones rigurosamente secas no fueron esenciales para esta reacción y se usó un lavado básico con hidróxido de sodio para eliminar cualquier 4-bromofenol remanente. En otro aspecto de la invención, el producto intermedio 2 se sintetiza mediante el uso de cualquier reacción de formación de éter. El producto intermedio 2 se sintetiza a partir del compuesto 1 que contiene cualquier grupo saliente. Por ejemplo, el químico experto comenzaría con compuestos de la fórmula general:



en donde el grupo saliente "LG" incluye pero no se limita a halógeno, tosilato, mesilato, trifluo, etc.

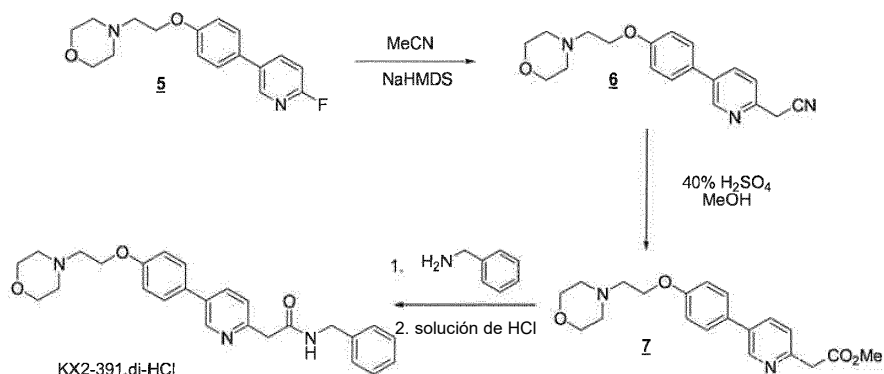
El compuesto 5 se formó mediante el uso de una reacción de Suzuki. La formación del borato de arilo, ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico (4), se llevó a cabo mediante la formación del anión arilo mediante el uso de n-BuLi seguido de la inactivación *in situ* con triisopropilborato (Li, y otros, J. Org. Chem. 2002, 67, 5394-5397). El ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico resultante (4) se acopló a 4-(2-(4-bromofenoxy)etil)morfolina (2) en una solución de DME y carbonato de sodio acuoso mediante el uso de tetrakis(trifenilfosfina)paladio para proporcionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5), que se purificó mediante el uso de cromatografía en gel de sílice. El químico experto sabría que se usan otras reacciones de acoplamiento con metales de transición para preparar compuesto 5.

La síntesis del dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida se muestra a continuación:

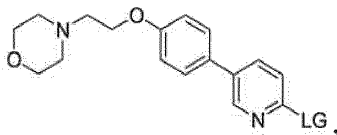
5

10

15



25



30

El dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391·HCl) se sintetizó en cuatro etapas lineales. El fluoruro de 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5) se desplazó por el anión de acetonitrilo formado mediante el uso de NaHMDS comercialmente disponible. Se adicionó acetonitrilo lentamente a una mezcla enfriada del compuesto 5 y base para formar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo (6). En otro aspecto de la invención, el producto intermedio 5 puede tener un grupo saliente distinto de flúor. Así, los compuestos de la fórmula general:

se buscan donde LG incluye otros grupos salientes conocidos por el químico experto.

35

La metanolisis catalizada por ácido de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo (6) se llevó a cabo mediante el uso de una mezcla de ácido sulfúrico fumante y sulfúrico concentrado. El uso de ácido sulfúrico fumante eliminó el agua residual de la mezcla de reacción y redujo la cantidad de subproducto de ácido carboxílico formado. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de la mezcla de reacción a una solución de bicarbonato de sodio saturado y diclorometano mientras se mantenía la temperatura por debajo de 20 °C. Cualquier contaminante de ácido carboxílico se eliminó fácilmente con tratamiento acuoso. En otro aspecto de la invención, el experto en la técnica usa otras condiciones catalizadas por ácido para la alcoholisis del nitrilo del compuesto 6 para producir el compuesto 7.

40

El metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato resultante (7) y la bencil amina se acoplaron en anisol a temperatura elevada para proporcionar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391). Una solución de HCl que se formó mediante la adición de cloruro de acetilo a etanol absoluto se adicionó a KX2-391 para formar la sal bis-HCl, dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida, (KX2-di-HCl).

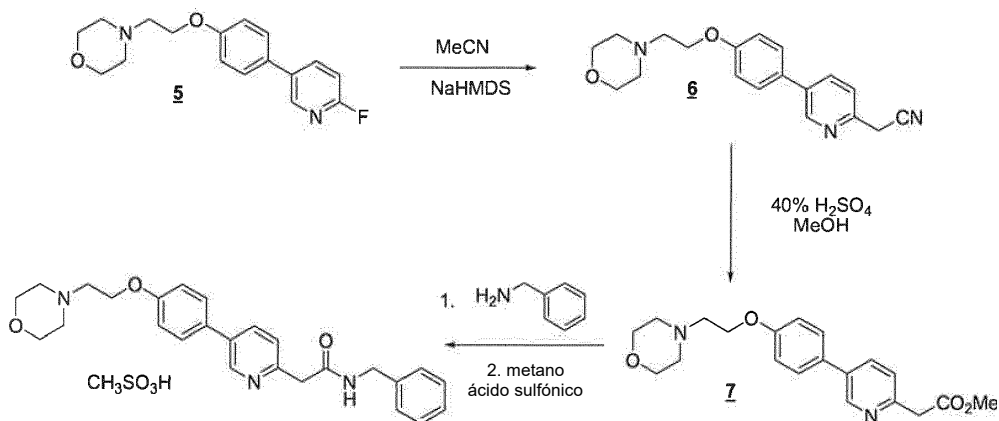
45

La síntesis de la sal de mesilato de KX2-391 (KX2-391·MSA) se representa en el siguiente esquema:

50

55

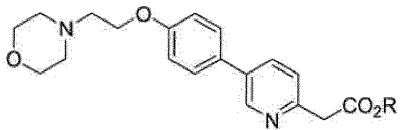
60



65

El mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391·MSA) se sintetizó en cuatro etapas lineales a partir del compuesto 5. Las primeras 3 etapas se llevaron a cabo de manera similar al procedimiento descrito anteriormente para KX2-391·2HCl para proporcionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato (KX2-391). KX2-391 se convirtió en la sal de metanosulfonato por tratamiento con ácido metanosulfónico (MSA) en acetona a 50 °C para proporcionar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391·MSA).

En otro aspecto de la invención, el producto intermedio 7 puede sintetizarse con un grupo distinto de -C(O)OMe. El químico experto buscaría compuestos intermedios de la fórmula general:



en donde el grupo "R" incluye pero no se limita a hidrógeno y alquilo.

En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de:

- (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina;
- (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina;
- (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo;
- (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
- y
- (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

En otro aspecto, la invención se refiere a un proceso para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de: (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina; (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina; (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo; (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo a 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato de metilo; (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida; y (6) poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

En otro aspecto, la invención se refiere a un proceso para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

En la presente descripción un proceso para preparar dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de:

- (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina;
- (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina;
- (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo;
- (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetoneitrilo a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
- (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida; y
- (6) poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido clorhídrico para producir dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

En la presente descripción se describe un proceso para preparar dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido clorhídrico para producir dihidrocloruro 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de reacción de metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

5 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo a 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato de metilo; y hacer reaccionar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato de metilo con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

10 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo; convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo en 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato de metilo; y hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

15 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de acoplar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina; hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo; convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo en metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato; y hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

20 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de hacer reaccionar la 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina.

25 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de acoplar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina.

30 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo.

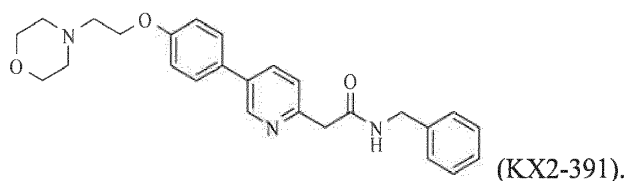
35 En la presente descripción se describe un proceso para preparar 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende las etapas de convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato.

40 En un aspecto, la invención se refiere al proceso descrito anteriormente para KX2-391 para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de: poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

45 En la presente descripción se describe el proceso descrito anteriormente para KX2-391 para preparar dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende la etapa de poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido clorhídrico para producir dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.

Composiciones

50 La invención se refiere a una sal de mesilato sustancialmente pura de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391):



65 Otros nombres para el compuesto KX2-391 incluyen 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida y base libre KX2-391.

La invención se refiere a composiciones y procesos para la síntesis de mesilato de KX2-391 altamente purificado (> 98,0 % determinado mediante HPLC) que es seguro y simple y que produce mesilato de KX2-391 a gran escala (> 100 g). Preferentemente, la síntesis produce el compuesto con alto rendimiento (> 80 %) y con impurezas limitadas.

5 En modalidades preferidas, el mesilato de KX2-391 en las composiciones de la presente invención tiene una pureza superior al 98 %. Por ejemplo, la pureza del mesilato de KX2-391 en las composiciones de la invención es 98,5 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 % o 99,9 %.

10 En modalidades preferidas, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de impurezas. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de una cualquiera de las siguientes impurezas, o combinaciones de estas: cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol y paladio.

15 Algunas impurezas se miden en partes por millón, que es una medida de peso relativo igual al peso del soluto/peso de la solución X 1 000 000, por ejemplo, el peso del cloruro de etilo/peso de muestra de di-HCl KX2-391 X 1 000 000; por ejemplo, el peso del cloruro de etilo/peso de la muestra de mesilato de KX2-391 X 1 000 000.

20 En otras modalidades preferidas, la composición contiene menos de 250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen cloruro de etilo en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 250 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 200 ppm, menos de 200 ppm, menos de 150 ppm, menos de 100 ppm o menos de 50 ppm de cloruro de etilo.

25 Los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen menos de aproximadamente 100 ppm de paladio. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen paladio en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 100 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 75 ppm, menos de 50 ppm, menos de 30 ppm, menos de 20 ppm, menos de 10 ppm o menos de 5 ppm de paladio.

30 En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen etanol en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 5000 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 4500 ppm, menos de 4000 ppm, menos de 3500 ppm, menos de 3000 ppm, menos de 2500 ppm o menos de 2000 ppm de etanol.

35 En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen acetato de etilo en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 50 000 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 48 000 ppm, menos de 45 000 ppm, menos de 40 000 ppm, menos de 35 000 ppm, menos de 30 000 ppm o menos de 25 000 ppm de acetato de etilo.

40 En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen heptano en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 7500 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 7000 ppm, menos de 6500 ppm, menos de 6000 ppm, menos de 5000 ppm, menos de 3000 ppm o menos de 1000 ppm de heptano.

45 En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 100 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 80 ppm, menos de 75 ppm, menos de 50 ppm, menos de 25 ppm, menos de 10 ppm o menos de 5 ppm de anisol.

50 En la presente descripción se describe una composición que incluye un solvato sustancialmente puro de KX2-391.

En la presente descripción se describe una composición que incluye un hidrato sustancialmente puro de KX2-391.

55 La invención incluye una sal de mesilato sustancialmente pura de KX2-391. Se describen en la presente descripción, además, la sal de hidrocloreuro y la sal de dihidrocloreuro.

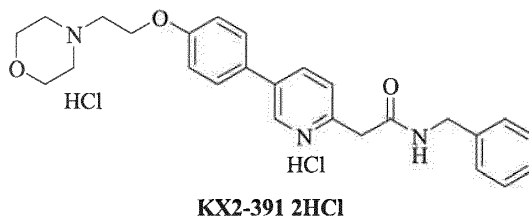
La invención se refiere a una composición que incluye una sal de mesilato sustancialmente pura de KX2-391.

60 En la presente descripción se describe una composición que incluye una sal de hidrocloreuro sustancialmente pura de KX2-391, y una composición que incluye una sal de dihidrocloreuro sustancialmente pura de KX2-391.

Se divulga en la presente descripción, además, un profármaco de KX2-391.

65 La invención se refiere, además, a una composición que incluye mesilato de KX2-391 sustancialmente puro, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se describe en la presente descripción, además, el dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida sustancialmente puro:



La invención se refiere a composiciones y procesos para la síntesis de KX2-391·MSA altamente purificado (> 98,0 % determinado mediante HPLC) que es seguro y simple y que produce KX2-391·MSA a gran escala (> 100 g) en alto rendimiento (> 80 %) y con cloruro de etilo limitado (<250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior).

Se describen en la presente descripción, además, composiciones que comprenden KX2-391·2HCl que tiene una pureza superior al 98 %. Por ejemplo, la pureza de KX2-391·2HCl puede ser 98,5 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 % o 99,9 %.

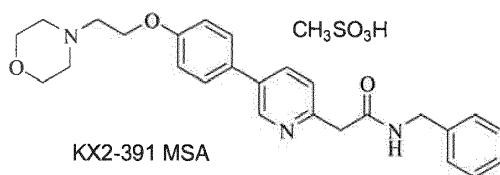
En modalidades preferidas, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de impurezas. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de una cualquiera de las siguientes impurezas, o combinaciones de estas: cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol y paladio.

En otras modalidades preferidas, la composición contiene menos de 250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen cloruro de etilo en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 250 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 200 ppm, menos de 200 ppm, menos de 150 ppm, menos de 100 ppm o menos de 50 ppm de cloruro de etilo.

Los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen menos de aproximadamente 100 ppm de paladio. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen paladio en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 100 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 75 ppm, menos de 50 ppm, menos de 30 ppm, menos de 20 ppm, menos de 10 ppm o menos de 5 ppm de paladio.

En la presente descripción se describe una composición que incluye KX2-391·2 HCl sustancialmente puro y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención se refiere a mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida sustancialmente puro (KX2-391·MSA):



La invención se refiere a composiciones y procesos para la síntesis de KX2-391·MSA altamente purificado (> 98,0 % determinado mediante HPLC) que es seguro y simple y que produce KX2-391·MSA a gran escala (> 100 g) en alto rendimiento (> 80 %) y con cloruro de etilo limitado (<250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior).

En modalidades preferidas, el KX2-391·MSA en las composiciones de la presente invención tiene una pureza superior al 98 %. Por ejemplo, la pureza de KX2-391·MSA en las composiciones de la invención es de 98,5 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 % o 99,9 %.

En modalidades preferidas, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de impurezas. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de una cualquiera de las siguientes impurezas, o combinaciones de estas: cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol y paladio.

En otras modalidades preferidas, la composición contiene menos de 250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen cloruro de etilo en un intervalo de aproximadamente 0

ppm a aproximadamente 250 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 200 ppm, menos de 150 ppm, menos de 100 ppm o menos de 50 ppm de cloruro de etilo.

5 Los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen menos de aproximadamente 100 ppm de paladio. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen paladio en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 100 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 75 ppm, menos de 50 ppm, menos de 30 ppm, menos de 20 ppm, menos de 10 ppm o menos de 5 ppm de paladio.

10 La invención se refiere, además, a una composición que incluye KX2-391·MSA sustancialmente puro y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Ciertos compuestos de la invención son inhibidores de quinasas competitivos no ATP.

15 Por ejemplo, los compuestos de la invención son útiles para tratar o prevenir una infección microbiana, tal como una infección bacteriana, fúngica, parasitaria o viral.

20 Un compuesto de la invención puede usarse como un agente farmacéutico. Por ejemplo, un compuesto de la invención se usa como un agente antiproliferativo, para tratar a humanos y/o animales, tales como para tratar a humanos y/u otros mamíferos. Los compuestos pueden usarse sin limitación, por ejemplo, como anticancerígenos, antiangiogénicos, antimicrobianos, antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios y/o agentes antivirales. Adicionalmente, los compuestos pueden usarse para otros trastornos relacionados con la proliferación celular tales como retinopatía diabética, degeneración macular y psoriasis. Los agentes anticancerosos incluyen agentes antimetastásicos.

25 El compuesto de la invención que se usa como agente farmacéutico es KX2-391·MSA sustancialmente puro.

30 La presente invención proporciona composiciones y formulaciones que contienen impurezas limitadas. Los compuestos y formulaciones de la presente invención tienen una pureza superior a aproximadamente 98,0 % como se determina mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, HPLC. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención tienen una pureza que varía de aproximadamente 99,0 % a aproximadamente 100 % (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, tales compuestos, composiciones o formulaciones pueden tener una pureza de 98,1 %, 98,2 %, 98,3 %, 98,4 %, 98,5 %, 98,6 %, 98,7 %, 98,8 %, 98,9 %, 99,0 %, 99,1 %, 99,2 %, 99,3 %, 99,4 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 %, o 99,9 %.

35 Con el fin de provocar el efecto farmacodinámico y terapéutico máximo de las composiciones y formulaciones de la presente invención, es beneficioso limitar los niveles de impurezas tales como cloruro de etilo y paladio. Estas impurezas pueden provocar una toxicidad indeseable.

40 En modalidades preferidas, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de impurezas. Por ejemplo, las composiciones y formulaciones de la invención contienen menos del 2 % de una cualquiera de las siguientes impurezas, o combinaciones de estas: cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol y paladio.

45 En otras modalidades preferidas, la composición contiene menos de 250 ppm de cloruro de etilo según se determina mediante análisis de solvente residual mediante cromatografía de gases en el espacio superior. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen cloruro de etilo en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 250 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 200 ppm, menos de 150 ppm, menos de 100 ppm o menos de 50 ppm de cloruro de etilo.

50 Los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen menos de aproximadamente 100 ppm de paladio. En una modalidad, los compuestos y formulaciones de la presente invención contienen paladio en un intervalo de aproximadamente 0 ppm a aproximadamente 100 ppm (o cualquier valor dentro de dicho intervalo). Por ejemplo, las composiciones contienen menos de 75 ppm, menos de 50 ppm, menos de 30 ppm, menos de 20 ppm, menos de 10 ppm o menos de 5 ppm de paladio.

55 Métodos de uso

60 Debido a que las quinasas están implicadas en la regulación de una amplia variedad de vías de transducción de señales celulares normales (por ejemplo, crecimiento celular, diferenciación, supervivencia, adhesión, migración, etc.), se piensa que las quinasas desempeñan una función en una variedad de enfermedades y trastornos. Así, la modulación de las cascadas de señalización de quinasas puede ser una forma importante de tratar o prevenir tales enfermedades y trastornos. Dichas enfermedades y trastornos incluyen, por ejemplo, cánceres, osteoporosis, trastornos cardiovasculares, disfunción del sistema inmunitario, diabetes de tipo II, obesidad y rechazo de trasplantes.

65 Los compuestos de la invención son útiles en la modulación de un componente de la cascada de señalización de quinasas. Algunos compuestos pueden ser útiles en la modulación de más de un componente de una cascada de señalización de quinasas. La frase "modula uno o más componentes de una cascada de señalización de proteína quinasa" significa que

uno o más componentes de la cascada de señalización de quinasa se afectan de manera que el funcionamiento de una célula cambia. Los componentes de una cascada de señalización de proteína quinasa incluyen cualquier proteína que participa directa o indirectamente en la vía de señalización de quinasa que incluye segundos mensajeros y objetivos corriente arriba y corriente abajo.

5

Se conocen varias proteínas quinasas y fosfatasa, y son objetivos para el desarrollo de terapias. Ver, por ejemplo, Hidaka y Kobayashi, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1992, 32:377-397; Davies y otros, *Biochem. J.*, 2000, 351:95-105.

10

Una familia de quinasas, las proteínas tirosina quinasas se dividen en dos grandes familias: receptor tirosina quinasas o RTK (por ejemplo, receptor de insulina quinasa (IRK), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor de factor de crecimiento de fibroblastos básico (FGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR-2 o Flk1/KDR), y receptor del factor de crecimiento nervioso (NGFR) y tirosina quinasas no receptoras, o NRTK (por ejemplo, la familia Src (Src, Fyn, Yes, Blk, Yrk, Fgr, Hck, Lck y Lyn), Fak, Jak, Abl y Zap70). Ver, por ejemplo, Parang y Sun, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2005, 15:1183-1207, que se incorpora como referencia en la presente descripción.

15

Debido a la función de las Src quinasas en una variedad de cánceres, estas quinasas son el tema de una serie de estudios relacionados con el desarrollo de inhibidores de Src como agentes terapéuticos contra el cáncer, que incluyen el crecimiento de células cancerosas altamente metastásicas. Los inhibidores de Src se buscan como agentes terapéuticos para una variedad de cánceres, que incluyen, por ejemplo, cáncer de colon, lesiones de colon precancerosas, cáncer de ovario, cáncer de mama, cánceres epiteliales, cáncer de esófago, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de páncreas y otros. Ver, por ejemplo, Frame, *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, 1602:114-130 y Parang y Sun, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2005, 15:1183-1207.

20

La inhibición de otras quinasas puede ser útil en el tratamiento y la modulación de otros tipos de enfermedades y trastornos. Por ejemplo, pueden inhibirse o prevenirse diversas enfermedades oculares mediante la administración de inhibidores de la tirosina quinasa del receptor de VEGF. Inhibidores de la tirosina fosfatasa PTP-1B y/o la glucógeno fosforilasa pueden proporcionar tratamientos para la diabetes tipo II u obesidad. Los inhibidores de p56^{lck} pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos del sistema inmunitario. Otros objetivos incluyen la transcriptasa inversa del VIH, la tromboxano sintasa, EGFR, p56^{fyn}, etc.

25

30

Los compuestos de la invención pueden ser inhibidores de la señalización de Src que se unen en el sitio del sustrato peptídico de Src. La actividad de varios compuestos de la invención se estudió en células NIH3T3 transformadas c-Src (527F, constitutivamente activas y transformantes) y en células de cáncer de colon humano (HT29). Por ejemplo, en estas líneas celulares, se demostró que KX2-391 reduce el nivel de fosforilación de los sustratos de la proteína Src conocidos de una manera dependiente de la dosis y en buena correlación con los efectos inhibidores del crecimiento. Así, en algunas modalidades, los compuestos de la invención pueden inhibir directamente Src, y pueden hacerlo mediante su unión en el sitio de unión del péptido (en oposición a la unión en un sitio alostérico).

35

Se llevaron a cabo experimentos de modelado molecular que muestran que los compuestos de la invención se ajustan en el sitio del sustrato modelo de Src (ver, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos núm. 7,005,445 y 7,070,936). El modelado se usa, además, para rediseñar las estructuras del inhibidor de la Src quinasa con el fin de apuntar a otras quinasas, simplemente mediante el uso de un conjunto diferente de cadenas laterales presentes en las moléculas y/o mediante la modificación de la propia estructura.

40

45

Sin pretender limitarse por la teoría, se piensa que la conformación de algunas quinasas (por ejemplo, Src) fuera de las células con respecto a la conformación dentro de las células es marcadamente diferente, porque dentro de las células, muchas quinasas se incluyen en los complejos de señalización multiproteína. Así, debido a que el sitio de unión del sustrato peptídico no se forma bien en una quinasa aislada (como se muestra por las estructuras de rayos X de Src), se piensa que la actividad contra la quinasa aislada para un inhibidor de unión al sustrato peptídico sería débil. La unión a este sitio en un ensayo de quinasa aislada requiere que el inhibidor capture el muy pequeño porcentaje de proteína total en un ensayo de enzima aislada que está en la misma conformación que existe dentro de las células. Esto requiere un gran exceso del inhibidor para drenar cantidades significativas de la enzima del ciclo catalítico en el ensayo con el fin de ser detectable.

50

55

Sin embargo, para los ensayos basados en células, no se necesita un gran exceso de inhibidor porque se espera que se forme el sitio de unión del péptido. En los ensayos de Src basados en células, las proteínas de unión al dominio SH2 y SH3 ya cambiaron la conformación de Src de modo que el sitio de unión del sustrato peptídico se forma completamente. Así, bajas concentraciones del inhibidor pueden eliminar la enzima del ciclo catalítico ya que toda la enzima está en la conformación de unión ajustada.

60

La gran mayoría de los inhibidores de quinasas conocidos son competitivos con el ATP y muestran una baja selectividad en un panel de ensayos de quinasas aisladas. Sin embargo, muchos de los compuestos de la invención se piensa que son inhibidores de unión al sustrato peptídico. Así, el cribado tradicional de alto rendimiento de compuestos contra enzimas aisladas, tales como las Src, no daría como resultado el descubrimiento de compuestos de la invención.

65

5 Los compuestos de la invención pueden ser un inhibidor de quinasas. El compuesto de la invención puede ser un inhibidor de quinasas no competitivo con el ATP. El compuesto de la invención puede inhibir directamente una quinasas, o puede afectar la vía de la quinasas. En una modalidad, el compuesto inhibe uno o más componentes de una cascada de señalización de proteína quinasas. En otra modalidad, el compuesto es un inhibidor alostérico. En otra modalidad, el compuesto es un inhibidor del sustrato peptídico. En otra modalidad, el compuesto no inhibe la unión de ATP a una proteína quinasas. En una modalidad, el compuesto inhibe una proteína quinasas de la familia Src. En otra modalidad, la proteína quinasas de la familia Src es pp60^{c-src} tirosina quinasas.

10 Los compuestos de la presente invención son útiles como agentes farmacéuticos, por ejemplo, como agentes terapéuticos para tratar seres humanos y animales. Los compuestos pueden usarse sin limitación, por ejemplo, como anticancerígenos, antiangiogénicos, antimetastásicos, antimicrobianos, antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios y/o agentes antivirales.

15 En una modalidad, la administración del compuesto se lleva a cabo por oralmente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, mediante instilación intranasal, mediante instilación intracavitaria o intravesicular, tópicamente, *por ejemplo*, mediante la administración de gotas en el oído, intraarterialmente, intralesionalmente, mediante una bomba dosificadora, o por aplicación a membranas mucosas. En otra modalidad, el compuesto se administra con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 **Cáncer**

25 Existe un considerable apoyo bibliográfico reciente para focalizar pp60c-src (Src) como un enfoque ampliamente útil para la terapia contra el cáncer sin producir una toxicidad grave. Por ejemplo, tumores que muestran una señalización de PTK del receptor de EGF mejorada, o sobreexpresión del receptor Her-2/neu, activan constitutivamente a Src y potencian la invasividad tumoral. La inhibición de Src en estas células induce la detención del crecimiento, desencadena la apoptosis y revierte el fenotipo transformado (Kami y otros (1999) Oncogene 18(33): 4654-4662). Se sabe que la actividad de Src anormalmente elevada permite que las células transformadas crezcan de forma independiente del anclaje. Esto aparentemente tiene como causa el hecho de que la señalización en la matriz extracelular eleva la actividad de Src en la vía FAK/Src, de manera coordinada con la señalización mitogénica, y por lo tanto bloquea un mecanismo apoptótico que normalmente se activaría. Consecuentemente la inhibición de FAK/Src en células tumorales puede inducir apoptosis debido a que se activaría el mecanismo apoptótico que normalmente se activaría al liberarse de la matriz extracelular (Hisano, y otros, Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res. 38:A1925 (1997)). Adicionalmente, se observó una expresión de ARNm de VEGF reducida tras la inhibición de Src y los tumores derivados de estas líneas celulares Src-inhibidas mostraron un desarrollo angiogénico reducido (Ellis y otros, Journal of Biological Chemistry 273 (2):1052-1057 (1998)).

35 Se propuso que Src es un objetivo "universal" para la terapia contra el cáncer, ya que se demostró que se sobreactiva en un número creciente de tumores humanos (Levitzki, Current Opinion in Cell Biology, 8, 239-244 (1996); Levitzki, Anti-Cancer Drug Design, 11, 175-182 (1996)). Los beneficios potenciales de la inhibición de Src para la terapia contra el cáncer parecen ser una inhibición cuádruple del crecimiento celular descontrolado causado por los efectos en el bucle del factor de crecimiento autocrino, la inhibición de la metástasis debida a la apoptosis al liberarse de la matriz celular, la inhibición de la angiogénesis tumoral a través de la reducción de los niveles de VEGF, y baja toxicidad.

40 Se informó que las células de cáncer de próstata tienen una sobreexpresión de paxillin y p130cas y se hiperfosforilan (Tremblay y otros, Int. J. Cancer, 68, 164-171, 1996) y por lo tanto puede ser un objetivo principal para los inhibidores de Src.

45 La invención incluye una composición que comprende mesilato de KX2-391 que tiene una pureza superior al 98,0 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 % o 99,7 % según se determina mediante HPLC, para usar en el tratamiento de un trastorno de la proliferación celular.

50 Por ejemplo, el trastorno de proliferación celular es precáncer o cáncer. El trastorno de la proliferación celular tratado o prevenido por los compuestos de la invención puede ser un cáncer, tal como, por ejemplo, cáncer de colon o cáncer de pulmón. El trastorno de proliferación celular tratado o prevenido por los compuestos de la invención puede ser un trastorno hiperproliferativo. El trastorno de la proliferación celular tratado o prevenido por los compuestos de la invención puede ser psoriasis.

55 El tratamiento o la prevención del trastorno proliferativo puede ocurrir a través de la inhibición de una tirosina quinasas. Por ejemplo, la tirosina quinasas puede ser una quinasas Src o quinasas de adhesión focal (FAK).

60 La invención se refiere, además, a una composición que comprende KX2-391·MSA que tiene una pureza superior al 98,0 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 % o 99,7 % según lo determinado mediante HPLC, para su uso en un método para tratar o prevenir el cáncer o un trastorno de proliferación.

65

Pérdida de la audición

Como se describe en la presente descripción, un compuesto de la invención puede usarse para proteger contra o evitar la pérdida de audición en un sujeto. Con el fin de proteger contra la pérdida de audición, el compuesto puede administrarse antes de la exposición al ruido o la exposición a un medicamento que induce pérdida de audición para evitar la pérdida de audición o para reducir el nivel de pérdida de audición. Tales fármacos que inducen pérdida de audición pueden incluir fármacos quimioterapéuticos (por ejemplo, fármacos a base de platino que se dirigen a células ciliadas) y antibióticos aminoglucósidos. Un compuesto de la invención puede proporcionar un efecto sinérgico con ciertos fármacos contra el cáncer. Por ejemplo, los inhibidores prometedores pueden seleccionarse en ensayos de tejidos tumorales humanos primarios, particularmente para buscar la sinergia con otros fármacos conocidos contra el cáncer. Además, los inhibidores de proteína quinasa pueden reducir la toxicidad de ciertos fármacos contra el cáncer (por ejemplo, fármacos a base de platino que son tóxicos para la cóclea y el riñón), lo que permite de esta manera una dosificación aumentada.

Alternativamente, un compuesto de la invención puede usarse para tratar la pérdida de audición en un sujeto. En esta modalidad, el compuesto se administra al sujeto después del inicio de la pérdida de audición para reducir el nivel de pérdida de audición. Un compuesto de la invención puede participar en la modulación de una cascada de quinasa, por ejemplo, un inhibidor de quinasa, un inhibidor no competitivo de ATP, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor de Src o un modulador de la quinasa de adhesión focal (FAK). Aunque sin desear limitarse por la teoría, se piensa que la administración de inhibidores de quinasa previene la apoptosis de las células ciliadas cocleares, y evita así la pérdida de la audición. En una modalidad, la administración de un compuesto de la invención se administra a un sujeto que sufre de pérdida auditiva con el fin de prevenir una pérdida auditiva adicional. En otra modalidad, la administración de un compuesto de la invención se administra a un sujeto que sufre de pérdida de audición con el fin de restaurar la audición perdida. En particular, después de la exposición al ruido, las estrechas uniones celulares entre las células ciliadas cocleares, así como la interacción célula-matriz extracelular, se desgarran y estresan. El estrés de estas uniones celulares estrechas inicia la apoptosis en las células a través de una vía de señalización compleja en la que las tirosina quinasa actúan como interruptores moleculares, mediante la interacción con la quinasa de adhesión focal para transducir señales de alteraciones de la matriz celular al núcleo. Se cree que la administración de inhibidores de quinasa previene el inicio de la apoptosis en esta cascada.

La identificación de la apoptosis en la cóclea expuesta al ruido generó una serie de nuevas posibilidades para la prevención de la pérdida auditiva inducida por el ruido (NIHL) (Hu, y otros, 2000, Acta. Otolaryngol., 120, 19-24). Por ejemplo, la oreja puede protegerse de NIHL mediante la administración de drogas antioxidantes a la ventana redonda del oído (Hight, y otros; 2003, Hear. Res., 179, 21-32; Hu, y otros; Hear. Res. 113, 198-206). Específicamente, la NIHL se reduce mediante la administración de compuestos antioxidantes aprobados por la FDA (N-L-acetilcisteína (L-NAC) y salicilato) en la chinchilla (Kopke, y otros, 2000, Hear. Res., 149, 138-146). Además, Harris y otros describieron recientemente la prevención de NIHL con inhibidores de Src-PTK (Harris, y otros; 2005, Hear. Res., 208, 14-25). Así, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de las quinasa es útil para tratar la pérdida de la audición.

Los cambios en la unión celular o el estrés celular pueden activar una variedad de señales a través de la activación de integrinas y mediante la fosforilación de PTK, incluida la familia Src de tirosina quinasa. Las interacciones Src se relacionan con vías de señalización que modifican el citoesqueleto y activan una variedad de cascadas de proteína quinasa que regulan la supervivencia celular y la transcripción génica (revisado en Giancotti y Ruoslahti, 1999, Science, 285, 1028-1032). De hecho, los resultados recientes indican que las células ciliadas externas (OHC), que se separan en la base celular después de una intensa exposición al ruido, sufren muerte celular apoptótica. Específicamente, se piensa que la cascada de señalización de PTK Src participa en la iniciación de la apoptosis tanto metabólica como inducida mecánicamente en las células sensoriales de la cóclea. En un estudio reciente, los inhibidores de Src proporcionaron protección contra un ruido de banda de octava de 4 horas y 4 kHz a 106 dB, lo que indica que las Src-PTK podrían activarse en las células ciliadas externas después de la exposición al ruido (Harris, y otros; 2005, Hear. Res., 208, 14-25). Así, los compuestos de la presente invención que modulan la actividad de Src, son útiles en el tratamiento de la pérdida de audición.

Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la pérdida de audición en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391-MSA sustancialmente puro.

En una modalidad, el compuesto se administra antes del inicio de la pérdida auditiva. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio de la pérdida de audición.

En una modalidad, el compuesto se administra en combinación con un fármaco que causa pérdida de audición, *por ejemplo*, cisplatino o un antibiótico aminoglucósido. En otra modalidad, el compuesto se administra en combinación con un fármaco que se dirige a células pilosas.

Osteoporosis

La presente invención se refiere a un método para proteger o tratar la osteoporosis en un sujeto. Este método implica administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención al sujeto para proteger contra o tratar la osteoporosis.

Con el fin de proteger contra la osteoporosis, el compuesto puede administrarse antes del desarrollo de la osteoporosis. Alternativamente, el compuesto puede usarse para tratar la osteoporosis en un sujeto. En una modalidad, el compuesto se administra al sujeto después del inicio de la osteoporosis para reducir el nivel de osteoporosis.

5 Un compuesto de la invención puede ser, por ejemplo, un inhibidor no competitivo de ATP. El compuesto de la invención puede modular una cascada de señalización de quinasa, en dependencia de las cadenas laterales particulares y de las modificaciones de la estructura seleccionadas. El compuesto de la invención puede ser un inhibidor de quinasa. Por ejemplo, el compuesto puede ser un inhibidor de proteína tirosina quinasa (PTK). La tirosina quinasa rica en prolina (PYK2, que se conoce, además, como quinasa β de adhesión celular, tirosina quinasa focal de adhesión relacionada o tirosina quinasa dependiente de calcio) y la quinasa de adhesión focal (FAK) son miembros de una familia distinta de proteínas tirosina quinasa no receptoras que se regulan por una variedad de estímulos extracelulares (Avraham, y otros; 2000, Cell Signal., 12, 123-133; Schlaepfer, y otros; 1999, Prog. Biophys. Mol. Biol., 71, 435-478). El compuesto de la invención puede ser un inhibidor de Src. Se demostró que la deficiencia de Src se asocia con la osteoporosis en ratones, debido a la pérdida de la función de los osteoclastos (Soriano, y otros; 1991, Cell, 64, 693-702). Alternativamente, el compuesto de la invención puede modular la expresión de la quinasa M asociada al receptor de interleucina-1 (IRAK-M). Los ratones que carecen de IRAK-M desarrollan osteoporosis severa, que se asocia con la diferenciación acelerada de los osteoclastos, un aumento en la vida media de los osteoclastos y su activación (Hongmei, y otros; 2005, J. Exp. Med., 201, 1169-1177).

20 Los osteoclastos multinucleados se originan a partir de la fusión de los fagocitos mononucleares y desempeñan una función importante en el desarrollo y la remodelación ósea a través de la reabsorción del hueso. Los osteoclastos son células multinucleadas diferenciadas terminalmente que degradan la matriz mineralizada. En el tejido óseo normal, hay un equilibrio entre la formación de hueso por los osteoblastos y la resorción ósea por los osteoclastos. Cuando el equilibrio de este proceso dinámico y altamente regulado se interrumpe, la resorción ósea puede exceder la formación de hueso y ocasionar una pérdida ósea cuantitativa. Debido a que los osteoclastos son esenciales para el desarrollo y la remodelación de los huesos, aumentar su número y/o actividad conduce a enfermedades que se asocian con la pérdida ósea generalizada (por ejemplo, osteoporosis) y otras con pérdida ósea localizada (por ejemplo, artritis reumatoide, enfermedad periodontal).

30 Los osteoclastos y los osteoblastos comandan una multitud de vías de señalización celular que involucran proteínas quinasa. La activación de los osteoclastos se inicia mediante la adhesión al hueso, la reorganización del citoesqueleto, la formación de la zona de sellado y la formación de la membrana con volantes polarizados. Se cree que la proteína tirosina quinasa 2 (PYK2) participa en la transferencia de señales desde la superficie celular al citoesqueleto, ya que se fosforila en la tirosina y se activa por la señalización iniciada por adhesión en los osteoclastos (Duong, y otros; 1998, J. Clin. Invest., 102, 881-892). La evidencia reciente indica que la reducción de los niveles de proteína PYK2 da como resultado la inhibición de la formación de osteoclastos y la resorción ósea *in vitro* (Duong, y otros; 2001, J. Bio. Chem., 276, 7484-7492). Así, la inhibición de PYK2 u otras proteínas tirosina quinasa podría reducir el nivel de osteoporosis al disminuir la formación de osteoclastos y la resorción ósea. Así, sin desear limitarse por la teoría, se hipotetiza que la administración de un compuesto de la presente invención modulará la actividad de la quinasa (por ejemplo, PTK) y, por lo tanto, dará como resultado la inhibición de la formación de osteoclastos y/o resorción ósea, por lo que se trata la osteoporosis.

La Src tirosina quinasa se destaca como un objetivo terapéutico prometedor para la enfermedad ósea al validarse por estudios en ratones a los que se les eliminó Src y experimentos celulares *in vitro*, lo que sugiere un papel regulador de Src en ambos osteoclastos (positivo) y osteoblastos (negativo). En osteoclastos, Src desempeña una función clave en la motilidad, la polarización, la supervivencia, la activación (formación de borde ondulado) y la adhesión, mediante la mediación de diversas vías de transducción de señales, especialmente en la señalización de citocinas e integrinas. (Parang y Sun; 2005, Expert Opin. Ther. Patents, 15, 1183-1207). Además, la alteración selectiva del gen *src* en ratones induce osteopetrosis, un trastorno caracterizado por una resorción ósea disminuida, sin mostrar ninguna anomalía morfológica o funcional evidente en otros tejidos o células (Soriano, y otros; 1991, Cell, 64, 693-702). El fenotipo osteopetrótico de los ratones *src*^{-/-} es autónomo de la célula y es el resultado de defectos en los osteoclastos maduros que normalmente expresan altos niveles de proteína Src (Home, y otros; 1991, Cell, 119, 1003-1013). Al limitar la efectividad de la tirosina quinasa Src, que desencadena la actividad de los osteoclastos e inhibe los osteoblastos, se piensa que los inhibidores de Src disminuyen la degradación ósea y estimulan la formación de hueso. Debido a que los osteoclastos normalmente expresan altos niveles de Src, la inhibición de la actividad de la Src quinasa podría ser útil en el tratamiento de la osteoporosis (Missbach, y otros; 1999, Bone, 24, 437-449). Así, los inhibidores de PTK de la presente invención que modulan la actividad de Src, son útiles en el tratamiento de la osteoporosis.

60 Por ejemplo, la eliminación del gen de Src en ratones condujo a un solo defecto, es decir, osteoclastos que no forman bordes ondulados y consecuentemente no reabsorben hueso. Sin embargo, la función de resorber el hueso de los osteoclastos se rescató en estos ratones mediante la inserción de un gen de Src defectuoso de quinasa (Schwartzberg y otros, (1997) Genes & Development 11: 2835-2844). Esto sugirió que la actividad de Src quinasa puede inhibirse *in vivo* sin desencadenar la única toxicidad conocida porque la presencia de la proteína Src es aparentemente suficiente para reclutar y activar otras PTK (que son esenciales para mantener la función de los osteoclastos) en un complejo de señalización esencial de los osteoclastos.

Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la osteoporosis en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391·MSA sustancialmente puro.

5 En una modalidad, el compuesto se administra antes del inicio de la osteoporosis. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio de la osteoporosis.

Obesidad

10 Como se describe en la presente descripción, un compuesto de la invención puede usarse para proteger contra o prevenir la obesidad en un sujeto. Con el fin de proteger contra la obesidad, el compuesto puede administrarse antes del desarrollo de la obesidad en un sujeto. Por ejemplo, el compuesto puede administrarse para prevenir o reducir el aumento de peso. Alternativamente, el compuesto puede usarse para tratar la obesidad en un sujeto. Un compuesto de la presente invención puede participar en la modulación de una cascada de señalización de quinasas, por ejemplo, un inhibidor de quinasas, un inhibidor no competitivo de ATP, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor de proteína tirosina fosfatasa o un inhibidor de proteína tirosina fosfatasa 1B.

15 La obesidad frecuentemente se asocia con la diabetes y el aumento de la resistencia a la insulina en tejidos sensibles a la insulina, como el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo blanco (Klaman, y otros; 2000, Mol. Cell. Biol., 20, 5479-5489). La insulina desempeña una función crítica en la regulación de la homeostasis de la glucosa, el metabolismo de los lípidos y el balance energético. La señalización de insulina se inicia mediante la unión de insulina al receptor de insulina (IR), un receptor tirosina quinasa. La unión a insulina evoca una cascada de eventos de fosforilación, que inicia con la autofosforilación del IR en múltiples residuos de tirosilo. La autofosforilación mejora la actividad quinasa del IR y desencadena eventos de señalización corriente abajo. Los efectos estimulantes de las proteínas tirosina quinasas y los efectos inhibidores de las proteínas tirosina fosfatasas definen en gran medida la acción de la insulina. La señalización adecuada de la insulina minimiza las grandes fluctuaciones en las concentraciones de glucosa en sangre y garantiza una administración adecuada de glucosa a las células. Dado que la estimulación de la insulina conduce a múltiples eventos de fosforilación de tirosilo, la actividad potenciada de una o más proteínas tirosina fosfatasas (PTP) podría conducir a la resistencia a la insulina, lo que puede conducir a la obesidad. De hecho, se informó del aumento de la actividad de PTP en varios estados resistentes a la insulina, incluida la obesidad (Ahmad, y otros; 1997, Metabolism, 46, 1140-1145). Así, sin desear limitarse por la teoría, la administración de un compuesto de la presente invención modula la actividad de quinasa (por ejemplo, PTP), y trata de esta manera la obesidad en un sujeto.

20 La señalización de insulina comienza con la activación del IR a través de la fosforilación de tirosina y culmina en la absorción de glucosa en las células por el transportador de glucosa, GLUT4 (Saltiel y Kahn; 2001, Nature, 414, 799-806). El IR activado debe desactivarse y devolverse a un estado basal, un proceso que se piensa que involucra a la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) (Ahmad, y otros; 1997, J. Biol. Chem., 270, 20503-20508). La alteración del gen que codifica PTP-1B en ratones produce sensibilidad a la insulina y una mayor resistencia a la obesidad inducida por la dieta (Elchebly, y otros; 1999, Science, 283, 1544-1548; Klaman, y otros; 2000, Mol. Cell. Biol., 20, 5479-5489). La disminución de la adiposidad en ratones deficientes en PTP-1B se debió a una marcada reducción en la masa de células grasas sin una disminución en el número de adipocitos (Klaman, y otros; 2000, Mol. Cell. Biol., 20, 5479-5489). Por otra parte, la delgadez en ratones deficientes en PTP-1B se acompañó de un aumento en la tasa metabólica basal y del gasto total de energía, sin una alteración marcada de la expresión del ARNm de la proteína desacopladora. La alteración del gen PTP-1B demostró que la alteración de la actividad de PTP-1B puede modular la señalización de insulina y la obesidad inducida por la dieta *in vivo*. Así, sin desear limitarse por la teoría, la administración de un compuesto de la presente invención que modula la señalización de insulina (por ejemplo, actividad de PTP-1B), es útil para tratar la obesidad en un sujeto.

Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la obesidad en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de KX2-391·MSA sustancialmente puro.

50 En una modalidad, el compuesto se administra antes de que el sujeto sea obeso. En otra modalidad, el compuesto se administra después de que el sujeto es obeso.

Diabetes

55 Como se describe en la presente descripción, un compuesto de la invención puede usarse para proteger contra o prevenir la diabetes en un sujeto. Con el fin de proteger contra la diabetes, el compuesto puede administrarse antes del desarrollo de la diabetes en un sujeto. Alternativamente, el compuesto puede usarse para tratar la diabetes en un sujeto. El compuesto de la presente invención puede participar en la modulación de una cascada de señalización de quinasas, por ejemplo, un inhibidor de quinasas, un inhibidor no competitivo de ATP, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor de homólogo de tensión y fosfatasa en el cromosoma 10 (PTEN), o un inhibidor de inositol 5'-fosfatasa 2 (SHIP2) que contiene homología de secuencia 2.

60 La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un trastorno del metabolismo energético desregulado. El metabolismo energético se controla en gran medida por la hormona insulina, un potente agente anabólico que promueve la síntesis y el almacenamiento de proteínas, carbohidratos y lípidos, e inhibe su degradación y liberación a la circulación. La acción de la insulina se inicia mediante la unión a su receptor de tirosina quinasa, lo que da como resultado la autofosforilación y el

5 aumento de la actividad catalítica de la quinasa (Patti, y otros; 1998, J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. 9, 89-109). La fosforilación de la tirosina hace que las proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS) interactúen con la subunidad reguladora p85 de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), lo que conduce a la activación de la enzima y a su orientación a una ubicación subcelular específica, en dependencia del tipo de célula. La enzima genera el producto lipídico fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PtdIns(3,4,5)P₃), que regula la localización y la actividad de numerosas proteínas (Kido, y otros; 2001, J. Clin. Endocrinol. Metab., 86, 972-979). PI3K tiene una función esencial en la captación y almacenamiento de glucosa estimulada por la insulina, la inhibición de la lipólisis y la regulación de la expresión génica hepática (Saltiel, y otros; 2001, Nature, 414, 799-806). La sobreexpresión de las formas de interferencia dominantes de PI3K puede bloquear la captación de glucosa y la translocación del transportador de glutamato cuatro, GLUT4, a la membrana plasmática (Quon, y otros; 1995, Mol. Cell. Biol., 15, 5403-5411). Así, la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de la quinasa (por ejemplo, PI3K) y por lo tanto da como resultado un aumento de la captación de glucosa, es útil en el tratamiento de la diabetes.

15 PTEN es un regulador principal de la señalización de PI3K en diversos tipos de células, y funciona como un supresor tumoral debido al antagonismo de las actividades antiapoptóticas, proliferativas e hipertróficas de la vía PI3K (Goberdhan, y otros; 2003, Hum. Mol. Genet., 12, R239-R248; Leslie, y otros; 2004, J. Biochem., 382, 1-11). Aunque sin desear limitarse por la teoría, se piensa que PTEN atenúa la vía de PI3K mediante la desfosforilación de la molécula PtdIns(3,4,5)P₃, y degrada este importante segundo mensajero de lípidos a PtdIns(4,5)P₂. En un estudio reciente, la reducción de la proteína PTEN endógena en un 50 % mediante el uso de ARN de interferencias pequeños (ARNip) mejoró los aumentos dependientes de insulina en los niveles de PtdIns(3,4,5)P₃ y la absorción de glucosa (Tang, y otros; 2005, J. Biol. Chem., 280, 22523-22529). Así, sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de PTEN, y por lo tanto da como resultado un aumento de la captación de glucosa, es útil para tratar la diabetes.

25 Los niveles de PtdIns(3,4,5)P₃ se controlan, además, por la familia de proteínas inositol 5'-fosfatasa (SHIP) que contienen homología 2 con SRC (SH2), SHIP1 y SHIP2 (Lazar y Saltiel; 2006, Nature Reviews, 5, 333-342). SHIP2, expresada en el músculo esquelético, entre otros tejidos sensibles a la insulina, cataliza la conversión de PtdIns(3,4,5)P₃ en PtdIns(3,4)P₂ (Pesesse, y otros; 1997; Biochem Biophys. Res. Commun., 239, 697-700; Backers, y otros; 2003, Adv. Enzyme Regul., 43, 15-28; Chi, y otros; 2004, J. Biol. Chem., 279, 44987-44995; Sleeman, y otros; 2005, Nature Med., 11, 199-205). La sobreexpresión de SHIP2 redujo marcadamente los niveles de PtdIns(3,4,5)P₃ estimulados por insulina, lo que concuerda con la capacidad propuesta de SHIP2 para atenuar la activación de los efectores corriente abajo de PI3K (Ishihara, y otros; 1999, Biochem. Biophys. Res. Commun., 260, 265-272). Así, sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de SHIP2, y por lo tanto da como resultado un aumento de la captación de glucosa, es útil para tratar la diabetes.

35 Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la diabetes en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391·MSA sustancialmente puro.

40 En una modalidad, el compuesto se administra antes del inicio de la diabetes. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio de la enfermedad.

Enfermedad oftálmica

45 Como se describe en la presente descripción, un compuesto de la invención puede usarse para proteger contra o prevenir la enfermedad oftálmica (ocular) en un sujeto. Con el fin de proteger contra la enfermedad ocular, el compuesto puede administrarse antes del desarrollo de la enfermedad ocular en un sujeto. Alternativamente, el compuesto puede usarse para tratar la enfermedad ocular en un sujeto, por ejemplo, degeneración macular, retinopatía y edema macular. El compuesto de la presente invención puede participar en la modulación de una cascada de quinastas, por ejemplo, un inhibidor de quinasa, un inhibidor no competitivo de ATP, un inhibidor de tirosina quinasa, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

55 Puede aparecer neovascularización que amenaza la visión de la córnea avascular fisiológicamente. Las retinopatías proliferativas, principalmente la retinopatía diabética y la degeneración macular relacionada con la edad, se caracterizan por un aumento de la permeabilidad vascular, que conduce al edema retiniano y a la acumulación de líquido subretiniano, y a la proliferación de nuevos vasos que son propensos a la hemorragia. La angiogénesis, la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de capilares preexistentes, es una parte integral tanto del desarrollo normal como de numerosos procesos patológicos. El VEGF, un mediador central de la compleja cascada de angiogénesis y un potente factor de permeabilidad, es un objetivo atractivo para nuevas terapias. El VEGF es el ligando de dos receptores de tirosina quinasa unidos a la membrana, VEGFR-1 y VEGFR-2. La unión del ligando desencadena la dimerización y transfosforilación de VEGFR con la activación posterior de un dominio de tirosina quinasa intracelular. El eje de señalización intracelular resultante da como resultado la proliferación, migración y supervivencia de las células endoteliales vasculares. Así, sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de quinasa, por ejemplo, la actividad de tirosina quinasa, y da como resultado la inhibición de la angiogénesis y/o neovascularización, es útil para tratar una enfermedad ocular, por ejemplo, degeneración macular, retinopatía y/o edema macular.

La degeneración macular se caracteriza por fugas retinianas mediadas por VEGF (un aumento en la permeabilidad vascular) y por el crecimiento anormal de pequeños vasos sanguíneos en la parte posterior del ojo (angiogénesis). El VEGF se identificó en membranas neovasculares tanto en la retinopatía diabética como en la degeneración macular relacionada con la edad, y los niveles intraoculares del factor se correlacionan con la gravedad de la neovascularización en la retinopatía diabética (Kvanta, y otros; 1996, Invest. Ophthal. Vis. Sci., 37, 1929-1934.; Aiello y otros, 1994, N. Engl. J. Med., 331, 1480-1487). El antagonismo terapéutico del VEGF en estos modelos da como resultado una inhibición significativa de la neovascularización retiniana y coroidea, así como una reducción en la permeabilidad vascular (Aiello, y otros; 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 92, 10457-10461; Krzystolik, y otros; 2002, Arch. Ophthal., 120, 338-346; Qaum, y otros; 2001, Invest. Ophthal. Vis. Sci., 42, 2408-2413). Así, sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad del VEGF, y da como resultado la inhibición de angiogénesis y/o la neovascularización, es útil para tratar una enfermedad ocular, por ejemplo, la degeneración macular, retinopatía y/o edema macular.

Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar enfermedades oftálmicas, *por ejemplo*, degeneración macular, retinopatía, edema macular, etc. en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de KX2-391·MSA sustancialmente puro.

En una modalidad, el compuesto se administra antes del inicio de la enfermedad oftálmica. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio de la enfermedad oftálmica.

Derrame

Los compuestos de la invención se usan en métodos para tratar, prevenir, mejorar un derrame en un sujeto que está en riesgo de sufrir un derrame, sufre un derrame o sufrió un derrame. Los compuestos de la invención son útiles en métodos de tratamiento de pacientes que se someten a rehabilitación después de un derrame.

Un derrame, que se conoce, además, como accidente cerebrovascular (ACV), es una lesión neurológica aguda por la cual el suministro de sangre a una parte del cerebro se interrumpe debido al bloqueo de una arteria o la ruptura de un vaso sanguíneo. La parte del cerebro en la que se interrumpe el suministro de sangre ya no recibe oxígeno y/o nutrientes transportados por la sangre. Las células del cerebro se dañan o se vuelven necróticas, lo que afecta la función en o desde esa parte del cerebro. El tejido cerebral deja de funcionar si se le priva de oxígeno durante más de 60 a 90 segundos y después de unos minutos sufrirá una lesión irreversible que posiblemente lleve a la muerte del tejido, *es decir*, infarto.

Los derrames se clasifican en dos tipos principales: isquémicos, *es decir*, bloqueo de un vaso sanguíneo que irriga el cerebro, y hemorrágicos, *es decir*, sangrado dentro o alrededor del cerebro. La mayoría de todos los derrames son derrames isquémicos. El derrame isquémico se divide comúnmente en derrame trombótico, derrame embólico, hipoperfusión sistémica (derrame de línea divisoria) o trombosis venosa. En el derrame trombótico, se desarrolla un proceso de formación de trombos en la arteria afectada, el trombo, *es decir*, coágulo de sangre, estrecha gradualmente el lumen de la arteria, e impide así el flujo de sangre al tejido distal. Estos coágulos generalmente se forman alrededor de las placas ateroscleróticas. Hay dos tipos de derrames trombóticos, que se clasifican según el tipo de vaso en el que se forma el trombo. El derrame trombótico de vasos grandes comprende las carótidas común e interna, vertebral y el Círculo de Willis. El derrame trombótico de vasos pequeños involucra las arterias intracerebrales, las ramas del Círculo de Willis, el tronco de la arteria cerebral media y las arterias que surgen de la arteria vertebral distal y la arteria basilar.

Un trombo, incluso si no es oclusivo, puede provocar un derrame si el trombo se rompe, en cuyo punto se convierte en un émbolo. Un émbolo se refiere a una partícula o restos que viajan en el torrente sanguíneo arterial que se origina en otro lugar. El derrame embólico se refiere al bloqueo del acceso arterial a una parte del cerebro por un émbolo. Un émbolo es con frecuencia un coágulo de sangre, pero puede ser, además, una placa que se desprendió de un vaso sanguíneo aterosclerótico o de otras sustancias, como grasa, aire e incluso células cancerosas. Debido a que un émbolo surge de otra parte, la terapia local solo resuelve el problema temporalmente. Así, se debe identificar la fuente del émbolo. Hay cuatro categorías de derrames embólicos: aquellos con una fuente cardíaca conocida; aquellos con una posible fuente cardíaca o aórtica (de un ecocardiograma transtorácico o transesofágico); aquellos con una fuente arterial; y aquellos con una fuente desconocida.

La hipoperfusión sistémica es la reducción del flujo sanguíneo a todas las partes del cuerpo. Generalmente se debe a una falla de la bomba cardíaca por paro cardíaco o arritmias, o a un gasto cardíaco reducido como resultado de un infarto de miocardio, embolia pulmonar, derrame pericárdico o hemorragia. La hipoxemia, (*es decir*, bajo contenido de oxígeno en la sangre) puede precipitar la hipoperfusión. Debido a que la reducción en el flujo sanguíneo es global, todas las partes del cerebro pueden afectarse, especialmente las áreas de "línea divisoria" que son regiones de zonas fronterizas irrigadas por las principales arterias cerebrales. El flujo de sangre a estas áreas no se detiene necesariamente, pero en su lugar puede disminuir hasta el punto donde se produce daño cerebral.

Las venas en el cerebro funcionan para drenar la sangre hacia el cuerpo. Cuando las venas se ocluyen debido a una trombosis, el drenaje de sangre se bloquea y la sangre retrocede, lo que causa edema cerebral. Este edema cerebral puede provocar derrames isquémicos y hemorrágicos. Esto ocurre comúnmente en la enfermedad rara trombosis de la vena sinusal.

El derrame se diagnostica en un sujeto o paciente mediante el uso de una o más de una variedad de técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, examen neurológico, análisis de sangre, tomografías computarizadas (sin mejoras de contraste), imágenes por resonancia magnética, ecografía Doppler y arteriografía, (es decir, radiografía de arterias después de la inyección de material de opaco radioactivo en el torrente sanguíneo). Si se confirma un derrame en las imágenes, se realizan otros estudios para determinar si existe una fuente periférica de émbolos. Estos estudios incluyen, por ejemplo, un estudio por ultrasonido/doppler de las arterias carótidas (para detectar estenosis carotídea); un electrocardiograma (ECG) y un ecocardiograma (para identificar arritmias y coágulos resultantes en el corazón que pueden diseminarse a los vasos cerebrales a través del torrente sanguíneo); un estudio con monitor Holter para identificar arritmias intermitentes y una angiografía de la vasculatura cerebral (si se piensa que una hemorragia se originó a partir de un aneurisma o una malformación arteriovenosa).

Los compuestos útiles en estos métodos para tratar, prevenir o mejorar el derrame o un síntoma asociado con el derrame son compuestos que modulan el procedimiento en cascada de señalización de quinasa, durante o después de un derrame. En algunas modalidades, el compuesto es un inhibidor de quinasa. Por ejemplo, el compuesto es un inhibidor de tirosina quinasa. En una modalidad, el inhibidor de tirosina quinasa es un inhibidor de Src. Por ejemplo, el compuesto utilizado en los métodos para tratar, prevenir o mejorar el derrame o un síntoma asociado con el derrame descrito en la presente descripción es un inhibidor alostérico de la cascada de señalización de quinasa que precede, o transcurre durante o después de un derrame. Preferentemente, el compuesto utilizado en los métodos para tratar, prevenir o mejorar un derrame o un síntoma asociado con un derrame descrito en la presente descripción es un inhibidor no competitivo de la ATP de la cascada de señalización de quinasa que precede, o transcurre durante o después de un derrame.

Se demostró que la inhibición de la actividad de Src proporciona protección cerebral durante el derrame. (Ver Paul y otros, Nature Medicine, vol. 7 (2):222-227 (2001), que se incorpora en su totalidad en la presente descripción como referencia). Se demostró que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que se produce en respuesta a la lesión isquémica, promueve la permeabilidad vascular. Los estudios demostraron que la quinasa Src regula la VP mediada por VEGF en el cerebro después del derrame, y la administración de un inhibidor de Src antes y después del derrame redujo el edema, mejoró la perfusión cerebral y disminuyó el volumen del infarto después de la lesión. (Paul y otros., 2001). Así, la inhibición de Src puede ser útil en la prevención, tratamiento o mejora del daño secundario después de un derrame.

Los compuestos de la invención previenen, tratan o mejoran el derrame o un síntoma asociado con el derrame. Los síntomas de una apoplejía incluyen entumecimiento o debilidad repentina, especialmente en un lado del cuerpo; confusión repentina o dificultad para hablar o entender el habla; problemas repentinos al ver en uno o ambos ojos; problemas repentinos al caminar, mareos o pérdida de equilibrio o coordinación; o dolor de cabeza repentino y severo sin causa conocida.

Generalmente existen tres etapas de tratamiento para el derrame: prevención, terapia inmediatamente después del derrame y rehabilitación posterior a un derrame. Las terapias para prevenir un derrame primario o recurrente se basan en el tratamiento de los factores de riesgo subyacentes para el derrame tales como, por ejemplo, hipertensión, colesterol alto, fibrilación auricular y diabetes. Las terapias para apoplejías agudas intentan detener un derrame mientras está sucediendo mediante la disolución rápida del coágulo sanguíneo que causa un derrame isquémico o mediante la detención de la hemorragia de un derrame hemorrágico. La rehabilitación después del derrame ayuda a las personas a superar las discapacidades que resultan del daño cerebral. La medicación o la farmacoterapia es el tratamiento más común para el derrame. Las clases más populares de medicamentos utilizados para prevenir o tratar el derrame son antitrombóticos (por ejemplo, agentes antiplaquetarios y anticoagulantes) y trombolíticos. Los compuestos se administran a un paciente que está en riesgo de sufrir un derrame, sufre un derrame o sufrió un derrame en algún momento antes, durante o después de, o cualquier combinación de estas, la aparición de un derrame. Los compuestos de la invención se administran solos, en composiciones farmacéuticas, o en combinación con cualquiera de una variedad de tratamientos conocidos, tales como, por ejemplo, un medicamento antiplaquetario (por ejemplo, aspirina, clopidogrel, dipiridamol), un anticoagulante (por ejemplo, warfarina), o un medicamento trombolítico (por ejemplo, activador del plasminógeno tisular (t-PA), reteplasa, uroquinasa, estreptoquinasa, tenecteplasa, lanoteplasa o anistreplasa).

Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger contra o tratar el derrame en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391-MSA sustancialmente puro.

En una modalidad, el compuesto se administra antes de que haya ocurrido un derrame. En otra modalidad, el compuesto se administra después de que ocurrió un derrame.

Ateroesclerosis

Los compuestos de la invención se usan en métodos para tratar, prevenir, mejorar la aterosclerosis o un síntoma de esta en un sujeto que está en riesgo de sufrir o que sufre de aterosclerosis.

La aterosclerosis es una enfermedad que afecta los vasos sanguíneos de las arterias y se refiere comúnmente a un "endurecimiento" de las arterias. Tiene como causa la formación de placas múltiples dentro de las arterias. Las placas ateroscleróticas, aunque compensadas por la dilatación de la arteria, finalmente conducen a rupturas de placa y estenosis (es decir, estrechamiento) de la arteria, que a su vez conduce a un suministro de sangre insuficiente al órgano que

5 alimenta. Alternativamente, si el proceso de agrandamiento de la arteria compensadora es excesivo, se produce un aneurisma neto. Estas complicaciones son crónicas, lentamente progresivas y acumulativas. Más comúnmente, la placa blanda se rompe repentinamente, y causa la formación de un coágulo de sangre (*es decir*, trombo) que ralentiza o detiene rápidamente el flujo sanguíneo, que a su vez conduce a la muerte de los tejidos alimentados por la arteria. Este evento catastrófico se llama infarto. Por ejemplo, la trombosis coronaria de una arteria coronaria causa un infarto de miocardio, comúnmente conocido como ataque cardíaco. Un infarto de miocardio ocurre cuando una placa aterosclerótica se acumula lentamente en el revestimiento interno de una arteria coronaria y después se rompe repentinamente, y ocluye totalmente la arteria y previene el flujo sanguíneo corriente abajo.

10 La aterosclerosis y el infarto agudo de miocardio se diagnostican en un paciente mediante el uso de cualquiera de una variedad de exámenes clínicos y/o de laboratorio tales como examen físico, examen radiológico o por ultrasonido y análisis de sangre. Por ejemplo, un médico o clínico puede escuchar las arterias de un sujeto para detectar un sonido de silbido anormal, llamado soplo. Puede escucharse un soplo con un estetoscopio cuando se coloca sobre la arteria afectada. Alternativamente, o en adición, el clínico o médico puede comprobar los pulsos, *es decir*, en la pierna o el pie, por anomalías tales como debilidad o ausencia. El médico o el clínico pueden realizar análisis de sangre para verificar los niveles de colesterol o verificar los niveles de enzimas cardíacas, como creatina quinasa, troponina y lactato deshidrogenasa, para detectar anomalías. Por ejemplo, las subunidades de troponina I o T, que son muy específicas para el miocardio, se elevan antes de que se desarrolle una lesión permanente. Una troponina positiva en el contexto del dolor torácico puede predecir con exactitud una alta probabilidad de infarto de miocardio en el futuro cercano. Otras pruebas para diagnosticar la aterosclerosis y/o el infarto de miocardio incluyen, por ejemplo, EKG (electrocardiograma) para medir la frecuencia y regularidad de los latidos del corazón de un sujeto; radiografía de tórax, medición del índice tobillo/brazo, que compara la presión sanguínea en el tobillo con la presión sanguínea en el brazo; análisis de ultrasonido de arterias; tomografía computarizada de áreas de interés; angiografía; una prueba de esfuerzo físico, exploración nuclear del corazón; y resonancia magnética (MRI) y tomografía por emisión de positrones (PET) del corazón.

25 Los compuestos útiles en estos métodos para tratar, prevenir o mejorar la aterosclerosis o un síntoma de esta son compuestos que modulan la cascada de señalización de quinasa en un paciente en riesgo de sufrir o que sufre de aterosclerosis. En algunas modalidades, el compuesto es un inhibidor de quinasa. Por ejemplo, el compuesto es un inhibidor de tirosina quinasa. En una modalidad, el inhibidor de tirosina quinasa es un inhibidor de Src. Preferentemente, el compuesto utilizado en los métodos para tratar, prevenir o mejorar la aterosclerosis o un síntoma de esta descrito en la presente descripción es un inhibidor alostérico de la cascada de señalización de quinasa implicada en la aterosclerosis. Preferentemente, el compuesto utilizado en los métodos para tratar, prevenir o mejorar la aterosclerosis o un síntoma asociado con la aterosclerosis descrito en la presente descripción es un inhibidor no competitivo de la ATP de la cascada de señalización de la quinasa implicada en la aterosclerosis.

35 Se cree que la transducción de señales celulares por Src desempeña una función clave en el aumento de la permeabilidad de los vasos, conocida como permeabilidad vascular (VP). Se demostró que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que se produce en respuesta a la lesión isquémica, que incluye, *por ejemplo*, infarto de miocardio, promueve la permeabilidad vascular. Los estudios demostraron que la inhibición de la quinasa Src disminuye la VP mediada por VEGF. (Ver Parang y Sun, Expert Opin. Ther. Patents, vol. 15(9): 1183-1206 (2005), que se incorpora en su totalidad en la presente descripción como referencia). Los ratones tratados con un inhibidor de Src demostraron un daño tisular reducido asociado con traumatismo o lesión de los vasos sanguíneos después de un infarto de miocardio, en comparación con los ratones no tratados. (Ver, *por ejemplo*, las publicaciones de patentes de los Estados Unidos núm. 20040214836 y 20030130209 por Cheresch y otros, cuyos contenidos se incorporan en su totalidad en la presente descripción como referencia). Así, la inhibición de Src puede ser útil en la prevención, tratamiento o mejora del daño secundario después de una lesión debido a aterosclerosis, tal como, por ejemplo, infarto de miocardio.

50 La aterosclerosis generalmente no produce síntomas hasta que estrecha severamente la arteria y restringe el flujo sanguíneo, o hasta que causa una obstrucción repentina. Los síntomas dependen de dónde se desarrollan las placas y el estrechamiento, *por ejemplo*, en el corazón, cerebro, otros órganos y piernas vitales o casi en cualquier parte del cuerpo. Los síntomas iniciales de la aterosclerosis pueden ser dolor o calambres cuando el cuerpo necesita más oxígeno, por ejemplo, durante el ejercicio, cuando una persona puede sentir dolor en el pecho (angina) debido a la falta de oxígeno en el corazón o calambres en las piernas debido a la falta de oxígeno en las piernas. El estrechamiento de las arterias que suministran sangre al cerebro puede provocar mareos o ataques isquémicos transitorios (AIT) cuando los síntomas y signos de un derrame duran menos de 24 horas. Típicamente, estos síntomas se desarrollan gradualmente.

60 Los síntomas del infarto de miocardio se caracterizan por diversos grados de dolor en el pecho, incomodidad, sudoración, debilidad, náuseas, vómitos y arritmias, que a veces causan pérdida del conocimiento. El dolor en el pecho es el síntoma más común de infarto agudo de miocardio y se describe frecuentemente como una sensación de opresión, presión o apretamiento. El dolor puede irradiarse a la mandíbula, el cuello, los brazos, la espalda y el epigastrio, con mayor frecuencia al brazo o cuello izquierdo. El dolor en el pecho es más probable que tenga como causa un infarto de miocardio cuando dura más de 30 minutos. Los pacientes que sufren un infarto de miocardio pueden mostrar dificultad para respirar (disnea), especialmente si la disminución de la contractilidad miocárdica debido al infarto es suficiente para provocar insuficiencia ventricular izquierda con congestión pulmonar o incluso edema pulmonar.

Los compuestos de la invención se administran solos, en composiciones farmacéuticas, o en combinación con cualquiera de una variedad de tratamientos conocidos para la aterosclerosis, tales como, por ejemplo, fármacos reductores del colesterol (*por ejemplo*, estatinas), medicamentos antiplaquetarios o anticoagulantes.

5 Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la aterosclerosis en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391·MSA sustancialmente puro. En una modalidad, el compuesto se administra antes de que se presenten los síntomas de la aterosclerosis. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio de los síntomas de la aterosclerosis.

10 Dolor neuropático

Los compuestos de la invención se usan en métodos para tratar, prevenir, mejorar el dolor neuropático, tal como dolor neuropático crónico, o un síntoma de este en un sujeto que está en riesgo de sufrir, sufre o sufrió dolor neuropático.

15 El dolor neuropático, se conoce, además, como neuralgia, es cualitativamente diferente del dolor nociceptivo común. El dolor neuropático generalmente se presenta como un ardor constante y/o sensaciones de "descarga eléctrica". La diferencia entre el dolor nociceptivo y el dolor neuropático se debe al hecho de que el dolor nociceptivo "común" solo estimula los nervios del dolor, mientras que una neuropatía frecuentemente resulta en la estimulación de los nervios sensoriales dolorosos y no dolorosos (*por ejemplo*, nervios que responden al tacto, calor, frío) en la misma área, y producen señales que la médula espinal y el cerebro normalmente no esperan recibir.

20 El dolor neuropático es un dolor complejo y crónico que generalmente se acompaña de una lesión tisular. Con dolor neuropático, las fibras nerviosas mismas pueden dañarse, volverse disfuncionales o lesionarse. Estas fibras nerviosas dañadas envían señales incorrectas a otros centros de dolor. El impacto de la lesión de la fibra nerviosa incluye un cambio en la función nerviosa tanto en el sitio de la lesión como en las áreas alrededor de la lesión.

25 El dolor neuropático se diagnostica en un sujeto o paciente mediante el uso de una o más de una variedad de técnicas de laboratorio y/o clínicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, examen físico.

30 Los compuestos útiles en estos métodos para tratar, prevenir o mejorar el dolor neuropático, tales como el dolor neuropático crónico o un síntoma asociado con el dolor neuropático, son compuestos que modulan la cascada de señalización de quinasas que participa en el dolor neuropático.

35 Se demostró que c-Src regula la actividad de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA). (*Ver Yu y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 96: 7697-7704 (1999)*, que se incorpora en su totalidad en la presente descripción como referencia). Los estudios demostraron que PP2, un inhibidor de la quinasa Src de bajo peso molecular, disminuye la fosforilación de la subunidad NM2 del receptor NMDA. (*Ver Guo y otros, J. Neuro., vol. 22: 6208-6217 (2002)*, que se incorpora en su totalidad en la presente descripción como referencia). Así, la inhibición de Src, que a su vez inhibe la actividad de los receptores de NMDA, puede ser útil en la prevención, tratamiento o mejora del dolor neuropático, tal como el dolor neuropático crónico.

40 Los compuestos de la invención previenen, tratan o mejoran el dolor neuropático, tal como dolor neuropático crónico, o un síntoma asociado con el dolor neuropático. Los síntomas del dolor neuropático incluyen dolor punzante y ardor, hormigueo y entumecimiento.

45 Los compuestos de la invención se administran solos, en composiciones farmacéuticas, o en combinación con cualquiera de una variedad de tratamientos conocidos, tales como, por ejemplo, analgésicos, opioides, antidepresivos tricíclicos, anticonvulsivos e inhibidores de la recaptación de serotonina norepinefrina.

50 En una modalidad, el compuesto se administra antes del inicio del dolor neuropático crónico. En otra modalidad, el compuesto se administra después del inicio del dolor neuropático crónico.

Hepatitis B

55 Los compuestos de la invención se usan en métodos para tratar, prevenir, mejorar la hepatitis B o un síntoma de la misma en un sujeto que está en riesgo de sufrir o que sufre de hepatitis B.

60 El virus de la hepatitis B, un miembro de la familia Hepadnavirus, consiste en una partícula nuclear proteácea que contiene el genoma viral en forma de ADN bicatenario con regiones monocatenarias y una envoltura exterior a base de lípidos con proteínas integradas. Las proteínas de la envoltura están implicadas en la unión viral y la liberación en células susceptibles. La cápsida interna reubica el genoma de ADN en el núcleo de la célula donde se transcriben los ARNm virales. Se fabrican tres transcritos subgenómicos que codifican las proteínas de la envoltura, junto con una transcripción que codifica la proteína X. Se transcribe un cuarto ARN pregenómico, que se exporta al citosol y traduce la polimerasa viral y las proteínas del núcleo. La polimerasa y el ARN pregenómico se encapsidan en el ensamblaje de las partículas del núcleo, donde la proteína de la polimerasa produce la transcripción inversa del ARN pregenómico al ADN genómico.

65

La partícula nuclear madura sale después de la célula a través de las vías secretoras normales, y adquiere una envoltura a lo largo del camino.

5 La hepatitis B es uno de los pocos virus no retrovirales conocidos que emplea la transcripción inversa como parte del proceso de replicación. Otros virus que usan transcripción inversa incluyen, por ejemplo, HTLV o HIV.

10 Durante la infección de HBV, la respuesta inmunitario del huésped es responsable tanto del daño hepatocelular como del aclaramiento viral. Si bien la respuesta inmunitario innata no desempeña una función significativa en estos procesos, la respuesta inmunitario adaptativa, particularmente los linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos de virus, contribuye a casi toda la lesión hepática asociada con la infección por VHB. Al matar las células infectadas y al producir citocinas antivirales capaces de purgar el VHB de los hepatocitos viables, los CTL eliminan, además, el virus. Aunque el daño hepático se inicia y se media por los CTL, las células inflamatorias no específicas de antígeno pueden empeorar la inmunopatología inducida por CTL y las plaquetas pueden facilitar la acumulación de CTL en el hígado.

15 La hepatitis B se diagnostica en un paciente mediante el uso de cualquiera de una variedad de exámenes clínicos y/o de laboratorio tales como examen físico y análisis de sangre o suero. Por ejemplo, se analiza la sangre o el suero para detectar la presencia de antígenos virales y/o anticuerpos producidos por el anfitrión. En un examen común para la hepatitis B, la detección del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) se usa para detectar la presencia de infección. Es el primer antígeno viral detectable que aparece durante la infección con este virus; sin embargo, al principio de una
20 infección, este antígeno puede no estar presente y puede ser indetectable más adelante en la infección, ya que se elimina por el huésped. Durante esta 'ventana' en la que el huésped permanece infectado pero elimina exitosamente el virus, los anticuerpos IgM contra el antígeno nuclear de la hepatitis B (IGM anti-HBc) pueden ser la única evidencia serológica de la enfermedad.

25 Poco después de la aparición del HBsAg, aparecerá otro antígeno llamado antígeno e de la hepatitis B (HBeAg). Tradicionalmente, la presencia de HBeAg en el suero de un huésped se asocia con tasas mucho más altas de replicación viral; sin embargo, algunas variantes del virus de la hepatitis B no producen el antígeno "e" en absoluto. Durante el curso natural de una infección, el HBeAg puede eliminarse, y los anticuerpos contra el antígeno "e" (anti HBe) surgirán inmediatamente después. Esta conversión generalmente se asocia con una disminución dramática en la replicación viral.
30 Si el huésped puede eliminar la infección, eventualmente el HBsAg se volverá indetectable y aparecerán anticuerpos contra el antígeno de superficie de la hepatitis B (anti-HBs). Una persona que es negativa para HBsAg pero positiva para antiHBs eliminó una infección o se vacunó previamente. Varias personas que son positivas para HBsAg pueden tener muy poca multiplicación viral y, por lo tanto pueden tener poco riesgo de complicaciones a largo plazo o de transmitir infecciones a otros.

35 Los compuestos útiles en estos métodos para tratar, prevenir o mejorar la hepatitis B o un síntoma de esta son compuestos que modulan la cascada de señalización de quinasa en un paciente en riesgo o que sufre de hepatitis B. En algunas modalidades, el compuesto es un inhibidor de quinasa. Por ejemplo, el compuesto es un inhibidor de tirosina quinasa. En una modalidad, el inhibidor de tirosina quinasa es un inhibidor de Src. Preferentemente, el compuesto utilizado en los
40 métodos para tratar, prevenir o mejorar la hepatitis B o un síntoma de esta descrito en la presente descripción es un inhibidor alostérico de la cascada de señalización de quinasa que participa en la hepatitis B. Preferentemente, el compuesto utilizado en los métodos para tratar, prevenir o mejorar la hepatitis B o un síntoma asociado con la hepatitis B que se describe en la presente descripción es un inhibidor no competitivo de ATP de la cascada de señalización de la quinasa que participa en la hepatitis B.

45 Src juega un papel en la replicación del virus de la hepatitis B. El factor de transcripción HBx codificado viralmente activa Src en una etapa que se requiere de la propagación del virus de HBV. (Ver, por ejemplo, Klein y otros, EMBO J., vol. 18:5019-5027 (1999); Klein y otros, Mol. Cell. Biol., vol. 17: 6427-6436 (1997), cada uno de los cuales se incorpora en su totalidad en la presente descripción como referencia). Así, la inhibición de Src, que a su vez inhibe la propagación del
50 virus de HBV mediada por Src, puede ser útil en la prevención, tratamiento o mejora de la hepatitis B o un síntoma de esta.

55 Los compuestos de la invención previenen, tratan o mejoran la hepatitis B o un síntoma asociado con la hepatitis B. Los síntomas de la hepatitis B típicamente se desarrollan dentro de los 30-180 días de la exposición al virus. Sin embargo, hasta la mitad de todas las personas infectadas con el virus de la hepatitis B no tienen síntomas. Los síntomas de la hepatitis B frecuentemente se comparan con la gripe, e incluyen, por ejemplo, pérdida del apetito; fatiga; náuseas y vómitos, picazón en todo el cuerpo; dolor sobre el hígado (por ejemplo, en el lado derecho del abdomen, debajo de la caja torácica inferior), ictericia y cambios en las funciones excretoras.

60 Los compuestos de la invención se administran solos, en composiciones farmacéuticas, o en combinación con cualquiera de una variedad de tratamientos conocidos para la hepatitis B, tales como, por ejemplo, interferón alfa, lamivudina (Epiriv-HBV) y baraclud (entecavir).

65 Otro aspecto de la invención incluye un método para proteger o tratar la hepatitis B en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de KX2-391·MSA sustancialmente puro.

En una modalidad, el compuesto se administra antes de que el sujeto contraiga hepatitis B. En otra modalidad, el compuesto se administra después de que el sujeto contraiga hepatitis B.

Regulación de la actividad del sistema inmunitario

5 Como se describe en la presente descripción, los compuestos de la invención pueden usarse para regular la actividad del sistema inmunitario en un sujeto, y proteger así contra o prevenir la enfermedad autoinmunitario, por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, sepsis y lupus así como rechazo de trasplantes y enfermedades alérgicas. Alternativamente, el compuesto puede usarse para tratar una enfermedad autoinmunitario en un sujeto. Por ejemplo, el compuesto puede dar como resultado una reducción en la gravedad de los síntomas o detener la progresión inminente de la enfermedad autoinmunitario en un sujeto. El compuesto de la invención puede participar en la modulación de una cascada de señalización de quinasas, por ejemplo, un inhibidor de quinasas, un inhibidor no competitivo de ATP, un inhibidor de tirosina quinasas, por ejemplo, un inhibidor de Src, un inhibidor de p59fyn (Fyn) o un inhibidor de p56lck (Lck).

15 Las enfermedades autoinmunitarios son enfermedades causadas por una ruptura de la auto tolerancia de manera que el sistema inmunitario adaptativo responde a los antígenos propios y media el daño celular y tisular. Las enfermedades autoinmunitarios pueden ser específicas de un órgano (por ejemplo, tiroiditis o diabetes) o sistémicas (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico). Las células T modulan la respuesta inmunitario mediada por células en el sistema inmunitario adaptativo. En condiciones normales, las células T expresan receptores antigénicos (receptores de células T) que reconocen fragmentos de péptidos de proteínas extrañas unidas a moléculas complejas de histocompatibilidad propias. Entre los primeros eventos reconocibles después de la estimulación del receptor de células T (TCR) están la activación de Lck y Fyn, que da como resultado la fosforilación de TCR en residuos de tirosina dentro de motivos de activación basados en tirosina del inmunorreceptor (Zamoyska, y otros; 2003, Immunol. Rev., 191, 107-118). Las tirosina quinasas, como Lck (que es un miembro de la familia Src de proteína tirosina quinasas) desempeñan una función esencial en la regulación de la señalización celular y la proliferación celular mediante la fosforilación de residuos de tirosina de péptidos y proteínas (Levitzi; 2001, Top. Curr. Chem., 211, 1-15; Longati, y otros; 2001, Curr. Drug Targets, 2, 41-55; Qian, y Weiss; 1997, Curr. Opin. Cell Biol., 9, 205-211). Así, aunque sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula la actividad de tirosina quinasa (por ejemplo, Src) es útil en el tratamiento de la enfermedad autoinmunitario.

30 Las tirosina quinasas lck y fyn se activan en la vía TCR; por lo tanto, inhibidores de lck y/o fyn tienen utilidad potencial como agentes autoinmunitarios (Palacios y Weiss; 2004, Oncogene, 23, 7990-8000). Lck y Fyn se expresan predominantemente por células T durante la mayor parte de su vida. Las funciones de Lck y Fyn en el desarrollo de células T, la homeostasis y la activación se demostraron por estudios de líneas celulares y animales (Parang y Sun; 2005, Expert Opin. The. Patents, 15, 1183-1207). La activación de Lck se relaciona con enfermedades autoinmunitarios y rechazo de trasplantes (Kamens, y otros; 2001, Curr. Opin. Investig. Drugs, 2, 1213-1219). Los resultados demostraron que las líneas celulares Jurkat lck (-) son incapaces de proliferar, producir citocinas y generar aumentos en el calcio intracelular, el fosfato de inositol y la fosforilación de la tirosina en respuesta a la estimulación de los receptores de células T (Straus y Weiss; 1992, Cell., 70, 585-593; Yamasaki, y otros; 1996, Mol. Cell. Biol., 16, 7151-7160). Así, un agente inhibidor de lck bloquearía eficazmente la función de las células T, actuaría como un agente inmunosupresor y tendría una utilidad potencial en enfermedades autoinmunitarios, como la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple y el lupus, así como en el rechazo de trasplantes y las enfermedades alérgicas (Hanke y Pollok; 1995, Inflammation Res., 44, 357-371). Así, aunque sin desear limitarse por la teoría, se formula la hipótesis de que la administración de un compuesto de la presente invención que modula uno o más miembros de la familia Src de proteínas tirosina quinasas (por ejemplo, lck y/o fyn) es útil en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarios.

Otro aspecto de la invención incluye un método para regular la actividad del sistema inmunitario en un sujeto que comprende administrar una composición que comprende una cantidad efectiva de KX2-391-MSA sustancialmente puro.

50 Definiciones

Por conveniencia, ciertos términos usados en la descripción, ejemplos y reivindicaciones anexas se recolectan en la presente descripción.

55 Las proteínas quinasas son una gran clase de enzimas que catalizan la transferencia del γ -fosfato del ATP al grupo hidroxilo en la cadena lateral de la Ser/Thr o Tyr en proteínas y péptidos y están implicadas íntimamente en el control de varias funciones celulares importantes, tal vez las más notables: transducción de señales, diferenciación y proliferación. Se estima que hay aproximadamente 2000 proteínas quinasas distintas en el cuerpo humano, y aunque cada una de estas fosforila sustratos peptídicos/proteínas, todos se unen al mismo segundo sustrato ATP en un bolsillo altamente conservado. Aproximadamente el 50 % de los productos de oncogenes conocidos son proteínas tirosina quinasas (PTK), y se demostró que su actividad quinasas conduce a la transformación celular.

65 Las PTK pueden clasificarse en dos categorías, las PTK receptoras de membrana (por ejemplo, PTK receptoras del factor de crecimiento) y las PTK no receptoras (por ejemplo, la familia Src de productos protooncogénicos y la quinasa de adhesión focal (FAK)). La hiperactivación de Src se ha informado en una serie de cánceres humanos, que incluyen los de colon, mama, pulmón, vejiga y piel, así como en cáncer gástrico, leucemia de células pilosas y neuroblastoma.

"Inhibe uno o más componentes de una cascada de señalización de proteína quinasa" significa que uno o más componentes de la cascada de señalización de quinasa se efectúan de manera que el funcionamiento de la célula cambia. Los componentes de una cascada de señalización de proteína quinasa incluyen cualquier proteína que participa directa o indirectamente en la vía de señalización de quinasa que incluye segundos mensajeros y objetivos corriente arriba y corriente abajo.

"Tratar", incluye cualquier efecto, *por ejemplo*, disminuir, reducir, modular o eliminar, que resulte en la mejora de la afección, enfermedad, trastorno, etc. "Tratar" o "tratamiento" de un estado de la enfermedad incluye: inhibir el estado de la enfermedad, *es decir*, detener el desarrollo del estado de la enfermedad o sus síntomas clínicos; o aliviar el estado de la enfermedad, *es decir*, provocar la regresión temporal o permanente del estado de la enfermedad o sus síntomas clínicos.

"Prevenir" el estado de la enfermedad incluye provocar que los síntomas clínicos del estado de la enfermedad no se desarrollen en un sujeto que pueda exponerse o predisponerse a la enfermedad, pero que aún no experimente ni muestre síntomas del estado de la enfermedad.

"Estado de la enfermedad" significa cualquier enfermedad, trastorno, afección, síntoma o indicación.

Tal como se usa en la presente descripción, el término "trastorno proliferativo celular" se refiere a las condiciones en las que el trastorno no regulado y/o un crecimiento anormal de las células puede conducir al desarrollo de una afección o enfermedad no deseada, que puede ser cancerosa o no cancerosa, por ejemplo, una afección psoriásica. Como se usa en la presente descripción, los términos "afección psoriásica" o "psoriasis" se refiere a trastornos que implican hiperproliferación de queratinocitos, infiltración de células inflamatorias y alteración de citocinas.

En una modalidad, el trastorno de proliferación celular es cáncer. Como se usa en la presente descripción, el término "cáncer" incluye tumores sólidos, tales como cáncer de pulmón, mama, colon, ovario, cerebro, hígado, páncreas, próstata, melanoma maligno, cáncer de piel no melanoma, así como tumores hematológicos y/o tumores malignos, como leucemia y linfomas infantiles, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, linfomas de origen linfocítico y cutáneo, leucemia aguda y crónica tales como leucemia linfoblástica aguda, mielocítica aguda o mielocítica crónica, neoplasia de células plasmáticas, neoplasia linfoide y cánceres asociados con el SIDA.

Además de las afecciones psoriásicas, los tipos de enfermedades proliferativas que pueden tratarse mediante el uso de las composiciones de la presente invención son quistes epidérmicos y dermoides, lipomas, adenomas, hemangiomas capilares y cutáneos, linfangiomas, lesiones nevi, teratomas, nefromas, miofibromatosis, tumores osteoplásticos y otras masas displásicas y lo similar. Las enfermedades proliferativas pueden incluir displasias y trastornos similares.

"Una cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un mamífero para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento de la enfermedad. En una modalidad, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz a un mamífero para reducir el nivel de la enfermedad, por ejemplo, para reducir el nivel de pérdida de audición. En una modalidad, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto. En otra modalidad, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará en dependencia del compuesto, la enfermedad y su gravedad y la edad, el peso, etc., del mamífero a tratar.

Puede formularse una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos con un vehículo farmacéuticamente aceptable para la administración a un humano o un animal. Por consiguiente, los compuestos o las formulaciones pueden administrarse, por ejemplo, por vía oral, parenteral o tópica, para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto. En modalidades alternativas, los compuestos preparados de acuerdo con la presente invención pueden usarse para recubrir o impregnar un dispositivo médico, *por ejemplo*, un prótesis endovascular.

El término "cantidad profilácticamente efectiva" significa una cantidad eficaz de un compuesto o compuestos de la presente invención que se administra para efectuar la prevención de la enfermedad. En una modalidad, se administra una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto. En otra modalidad, se administra una cantidad profilácticamente eficaz de una composición.

"Efecto farmacológico" como se usa en la presente descripción abarca los efectos producidos en el sujeto que logran el propósito pretendido de una terapia. En una modalidad, un efecto farmacológico significa que las indicaciones primarias del sujeto que se trata se previenen, alivian o reducen. Por ejemplo, un efecto farmacológico sería aquel que da como resultado la prevención, el alivio o la reducción de las indicaciones primarias en un sujeto tratado. En otra modalidad, un efecto farmacológico significa que los trastornos o síntomas de las indicaciones primarias del sujeto que se trata se previenen, alivian o reducen. Por ejemplo, un efecto farmacológico sería aquel que resulta en la prevención o reducción de las indicaciones primarias en un sujeto tratado.

Los compuestos de la presente invención que contienen nitrógenos pueden convertirse en N-óxidos por tratamiento con un agente oxidante (*por ejemplo*, ácido 3-cloroperoxibenzoico (*m*-CPBA) y/o peróxidos de hidrógeno) para proporcionar otros compuestos de la presente invención. Así, todos los compuestos que contienen nitrógeno que se muestran y

reivindican se consideran, cuando lo permiten la valencia y la estructura, que incluyen tanto el compuesto tal como se muestra y su derivado de N-óxido (que puede designarse como N→O o N⁺-O⁻). Además, en otros casos, los nitrógenos en los compuestos de la presente invención pueden convertirse en compuestos N-hidroxi o N-alcoxi. Por ejemplo, los compuestos N-hidroxi pueden prepararse por oxidación de la amina parental mediante un agente oxidante tal como *m*-CPBA. Todos los compuestos que contienen nitrógeno mostrados y reivindicados se consideran, además, cuando lo permiten la valencia y estructura, que cubren tanto el compuesto como se muestra y sus derivados N-hidroxi (*es decir*, N-OH) y N-alcoxi (*es decir*, N-OR, en donde R es C₁₋₆alquilo, C₁₋₆alquenilo, C₁₋₆alquinilo, C₃₋₁₄carbociclo, o heterociclo de 3-14 sustituidos o no sustituidos).

"Contraión" se usa para representar una especie pequeña con carga negativa, como cloruro, bromuro, hidróxido, acetato y sulfato.

Un "grupo aniónico", como se usa en la presente descripción, se refiere a un grupo que se carga negativamente a pH fisiológico. Los grupos aniónicos incluyen carboxilato, sulfato, sulfonato, sulfinato, sulfamato, tetrazolilo, fosfato, fosfonato, fosfinato o fosforotioato o equivalentes funcionales de estos. Los "equivalentes funcionales" de grupos aniónicos pretenden incluir bioisómeros, por ejemplo, bioisómeros de un grupo carboxilato. Los bioisómeros abarcan tanto equivalentes bioisostéricos clásicos como equivalentes bioisostéricos no clásicos. Los bioisómeros clásicos y no clásicos se conocen en la técnica (ver, *por ejemplo*, Silverman, R. B. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, Academic Press, Inc.: San Diego, Calif., 1992, páginas 19-23). En una modalidad, un grupo aniónico es un carboxilato.

La presente invención pretende incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

Los compuestos descritos en la presente descripción pueden tener centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo asimétricamente sustituido pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Se conoce bien en la técnica cómo preparar formas ópticamente activas, tales como por resolución de formas racémicas o por síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. Muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y lo similar pueden estar presentes, además, en los compuestos descritos en la presente descripción, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isómeras separadas. Se pretende incluir todas las formas isoméricas quirales, diastereoméricas, racémicas y geométricas de una estructura, a menos que esté específicamente indicada la estereoquímica o la forma isomérica. Todos los tautómeros de los compuestos mostrados o descritos se consideran, además, parte de la presente invención.

En la presente descripción, la fórmula estructural del compuesto representa un cierto isómero por conveniencia en algunos casos, pero la presente invención incluye todos los isómeros tales como isómero geométrico, isómero óptico basado en un carbono asimétrico, estereoisómero, tautómero y lo similar que se producen estructuralmente y una mezcla de isómeros y no se limita a la descripción de la fórmula por conveniencia, y puede ser cualquiera de los isómeros o una mezcla. Así, un átomo de carbono asimétrico puede estar presente en la molécula y un compuesto ópticamente activo y un compuesto racémico pueden estar presentes en el presente compuesto, pero la presente invención no se limita a ellos e incluye cualquiera. Además, un polimorfismo cristalino puede estar presente pero no es limitante, pero cualquier forma cristalina puede ser única o mezcla de una forma cristalina, o un anhídrido o hidrato. Además, el llamado metabolito que se produce por degradación del presente compuesto *in vivo* se incluye en el alcance de la presente invención.

"Isomerismo" significa compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas pero que difieren en la naturaleza o la secuencia de unión de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan "diastereoisómeros", y los estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles se denominan "enantiómeros", o a veces isómeros ópticos. Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina "centro quiral".

"Isómero quiral" significa un compuesto con al menos un centro quiral. Este tiene dos formas enantioméricas de quiralidad opuesta y puede existir como un enantiómero individual o como una mezcla de enantiómeros. Una mezcla que contiene cantidades iguales de formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina una "mezcla racémica". Un compuesto que tiene más de un centro quiral tiene 2ⁿ⁻¹ pares enantioméricos, donde n es el número de centros quirales. Los compuestos con más de un centro quiral pueden existir como un diastereómero individual o como una mezcla de diastereómeros, que se denomina una "mezcla diastereomérica". Cuando hay presente un centro quiral, un estereoisómero puede caracterizarse por la configuración absoluta (R o S) de ese centro quiral. Configuración absoluta se refiere a la disposición en el espacio de los sustituyentes unidos al centro quiral. Los sustituyentes unidos al centro quiral en cuestión se califican de acuerdo con la *Regla de Secuencia* de Cahn, Ingold y Prelog. (Cahn y otros, *Angew. Chem. Inter. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511; Cahn y otros, *Angew. Chem.* 1966, 78, 413; Cahn e Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612; Cahn y otros, *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, J., *Chem. Educ.* 1964, 41, 116).

"Isómeros geométricos" se refiere a los diastereómeros que deben su existencia a la rotación impedida alrededor de los enlaces dobles. Estas configuraciones se diferencian en sus nombres por los prefijos cis y trans, o Z y E, que indican que los grupos están en el mismo lado o en el lado opuesto del doble enlace en la molécula de acuerdo con las reglas de Cahn-Ingold-Prelog.

Además, las estructuras y otros compuestos discutidos en esta solicitud incluyen todos los isómeros atropicos de estos. Los "isómeros atropicos" son un tipo de estereoisómero en el que los átomos de dos isómeros se disponen de forma diferente en el espacio. Los isómeros atropicos deben su existencia a una rotación restringida causada por el obstáculo de la rotación de grupos grandes alrededor de un enlace central. Tales isómeros atropicos suelen existir como una mezcla, sin embargo, como resultado de los avances recientes en las técnicas de cromatografía, es posible separar mezclas de dos isómeros atropicos en casos seleccionados.

Los términos "polimorfos cristalinos" o "polimorfos" o "formas cristalinas" significan estructuras cristalinas en las que un compuesto (o sal o solvato de este) puede cristalizar en diferentes disposiciones de empaquetamiento de cristales, todas las cuales tienen la misma composición elemental. Las diferentes formas de cristal suelen tener diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, dureza de densidad, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. El solvente de recristalización, la velocidad de cristalización, la temperatura de almacenamiento y otros factores pueden provocar que una forma cristalina domine. Los polimorfos cristalinos de los compuestos pueden prepararse por cristalización en diferentes condiciones.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, por ejemplo, las sales de los compuestos, pueden existir en forma hidratada o no hidratada (anhidra) o como solvatos con otras moléculas de solvente. Los ejemplos no limitantes de hidratos incluyen monohidratos, dihidratos, etc. Los ejemplos no limitantes de solvatos incluyen solvatos de etanol, solvatos de acetona, etc.

"Solvatos" significa formas de adición del solvente que contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de solvente. Algunos compuestos tienen una tendencia a atrapar una relación molar fija de moléculas de solvente en el estado sólido cristalino, para formar así un solvato. Si el solvente es agua, el solvato formado es un hidrato, cuando el solvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las que el agua retiene su estado molecular como H₂O, tal combinación puede formar uno o más hidratos.

"Tautómeros" se refiere a compuestos cuyas estructuras difieren notablemente en la disposición de los átomos, pero que existen en un equilibrio fácil y rápido. Debe entenderse que los compuestos de la invención pueden representarse como tautómeros diferentes. Debe entenderse, además, que cuando los compuestos tienen formas tautoméricas, todas las formas tautoméricas se destinan a estar dentro del alcance de la invención, y la denominación de los compuestos no excluye ninguna forma de tautómero.

Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en una forma tautomérica. Se pretende, además, que los tautómeros se abarquen dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos, sales y profármacos de la presente invención pueden existir en varias formas tautoméricas, que incluyen la forma enol e imina, y la forma ceto y enamina y los isómeros geométricos y mezclas de estos. Todas estas formas tautoméricas se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Los tautómeros existen como mezclas de un conjunto tautomérico en solución. En forma sólida, generalmente predomina un tautómero. Aunque puede describirse un tautómero, la presente invención incluye todos los tautómeros de los presentes compuestos.

Un tautómero es uno de dos o más isómeros estructurales que existen en equilibrio y se convierten fácilmente de una forma isomérica a otra. Esta reacción da como resultado la migración formal de un átomo de hidrógeno acompañado de un cambio de dobles enlaces conjugados adyacentes. En soluciones donde es posible la tautomerización, se alcanzará un equilibrio químico de los tautómeros. La relación exacta de los tautómeros depende de varios factores, incluida la temperatura, el solvente y el pH. El concepto de tautómeros que son interconvertibles mediante tautomerizaciones se llama tautomería.

De los varios tipos de tautomería que son posibles, dos se observan comúnmente. En el tautomerismo ceto-enol ocurre un desplazamiento simultáneo de electrones y de un átomo de hidrógeno. El tautomerismo de cadena de anillo, es exhibido por la glucosa. Surge como resultado del grupo aldehído (-CHO) en una molécula de la cadena de azúcar que reacciona con uno de los grupos hidroxilo (-OH) en la misma molécula para darle una forma cíclica (en forma de anillo).

Las tautomerizaciones se catalizan por: Base: 1. desprotonación; 2. formación de un anión deslocalizado (*por ejemplo*, un enolato); 3. protonación en una posición diferente del anión; Ácido: 1. protonación; 2. formación de un catión deslocalizado; 3. desprotonación en una posición diferente adyacente al catión.

Los pares tautoméricos comunes son: cetona - enol, amida - nitrilo, lactama - lactima, amida - tautomerismo ácido imídico en anillos heterocíclicos (*por ejemplo*, en las nucleobases guanina, timina y citosina), amina - enamina y enamina - enamina.

Debe entenderse en consecuencia que los isómeros que surgen de átomos de carbono asimétricos (*por ejemplo*, todos los enantiómeros y diastereómeros) se incluyen dentro del alcance de la invención, a menos que se indique lo contrario. Tales isómeros pueden obtenerse en forma sustancialmente pura mediante técnicas de separación clásicas y mediante síntesis estereoquímicamente controlada. Además, las estructuras y otros compuestos y restos discutidos en esta solicitud incluyen, además, todos los tautómeros de estos. Los alquenos puede incluir la geometría E o Z, cuando corresponda. Los compuestos de esta invención pueden existir en forma estereoisomérica, por lo tanto pueden producirse como estereoisómeros individuales o como mezclas.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene los compuestos descritos en una forma adecuada para la administración a un sujeto. En una modalidad, la composición farmacéutica está a granel o en forma de dosificación unitaria. Puede ser ventajoso formular composiciones en forma de unidad de dosificación para facilidad de la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa en la presente descripción se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de reactivo activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación de las formas unitarias de dosificación de la invención se dicta por y depende directamente de las características únicas del reactivo activo y del efecto terapéutico particular que se desea alcanzar, y las limitaciones inherentes en la técnica de composición de tal agente activo para el tratamiento de individuos.

La forma de dosificación unitaria es cualquiera de una variedad de formas, que incluyen, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, una tableta, una única bomba en un inhalador de aerosol o un vial. La cantidad de ingrediente activo (*por ejemplo*, una formulación del compuesto o sal, hidrato, solvato o isómero de esta descrito) en una dosis unitaria de composición es una cantidad efectiva y varía de acuerdo con el tratamiento particular involucrado. Un experto en la técnica apreciará que a veces es necesario hacer variaciones de rutina a la dosificación en dependencia de la edad y el estado del paciente. La dosificación dependerá, además, de la vía de administración. Se contempla una variedad de vías, que incluyen oral, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, inhalatoria, bucal, sublingual, intrapleural, intratecal, intranasal y lo similar. Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. En una modalidad, el compuesto activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propulsor que se requiera.

El término "dosis instantánea" se refiere a formulaciones compuestas que son formas de dosificación que se dispersan rápidamente.

El término "liberación inmediata" se define como una liberación de compuesto a partir de una forma de dosificación en un período de tiempo relativamente breve, generalmente de hasta aproximadamente 60 minutos. El término "liberación modificada" se define para incluir la liberación retardada, liberación prolongada y liberación pulsada. El término "liberación pulsada" se define como una serie de liberaciones de fármaco a partir de una forma de dosificación. El término "liberación sostenida" o "liberación prolongada" se define como la liberación continua de un compuesto a partir de una forma de dosificación durante un período prolongado.

Un "sujeto" incluye mamíferos, *por ejemplo*, humanos, animales de compañía (*por ejemplo*, perros, gatos, aves y lo similar), animales de granja (*por ejemplo*, vacas, ovejas, cerdos, caballos, aves de corral, y lo similar) y animales de laboratorio (*por ejemplo*, ratas, ratones, conejillos de Indias, aves, y lo similar). En una modalidad, el sujeto es humano.

Como se usa en la presente descripción, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a los compuestos, materiales, composiciones, vehículos y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del juicio médico, son adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivas u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es seguro, no tóxico ni biológicamente ni de otra manera indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable tanto para uso veterinario como también para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" como se usa en la descripción y en las reivindicaciones incluye tanto uno como más de uno de tales excipientes.

Los compuestos de la invención son capaces de formar sales adicionales. Todas estas formas se contemplan, además, dentro del alcance de la invención reivindicada.

"Sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto significa una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto original.

Tal como se usa en la presente descripción, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto original se modifica y se producen sales ácidas o básicas de este. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas, sales de álcali u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y

lo similar. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto precursor formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales convencionales no tóxicas incluyen, entre otras, las derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos seleccionados de 2-acetoxibenzoico, 2-hidroxietanosulfónico, acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzoico, bicarbónico, carbónico, cítrico, edético, etano disulfónico, 1,2-etanosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, glicolilarsanílico, hexilresorcínico, hidrabámico, hidrobrómico, hidrocórico, hidroyódico, hidroximaleico, hidroxinaftoico, isotiónico, láctico, lactobiónico, laurilsulfónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, napsílico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, poligalacturónico, propiónico, salicíclico, esteárico, subacético, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfúrico, tánico, tartárico, toluenosulfónico, y los aminoácidos de uso común, por ejemplo, glicina, alanina, fenilalanina, arginina, etc.

Otros ejemplos incluyen ácido hexanoico, ácido ciclopentano propiónico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido mucónico y lo similar. La invención abarca, además, sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original o bien se reemplaza por un ion metálico, *por ejemplo*, un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo o un ion de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y lo similar.

Debe entenderse que todas las referencias a las sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de solvente (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se define en la presente descripción, de la misma sal.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir de un compuesto original que contiene un resto básico o ácido por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse al hacer reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; pueden usarse medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18va ed. (Mack Publishing Company, 1990). Por ejemplo, las sales pueden incluir, pero sin limitarse a, las sales de hidrocloreuro y acetato de los compuestos que contienen amina alifática que contienen hidroxilamina y que contienen imina de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse como profármacos, por ejemplo, profármacos farmacéuticamente aceptables. Los términos "pro-fármaco" y "profármaco" se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a cualquier compuesto que libere un fármaco precursor activo in vivo. Como se sabe que los profármacos mejoran numerosas cualidades deseables de los productos farmacéuticos (por ejemplo, solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, etc.) los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de profármaco. Así, la presente invención se destina a cubrir profármacos de los compuestos reivindicados en la presente descripción, métodos de administración de estos y composiciones que los contienen. Los "profármacos" pretenden incluir cualquier vehículo unido covalentemente que libere un fármaco precursor activo de la presente invención in vivo cuando tal profármaco se administre a un sujeto. Los profármacos de la presente invención se preparan mediante la modificación de los grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escinden, ya sea en la manipulación de rutina o in vivo, en el compuesto original. Los profármacos incluyen compuestos de la presente invención en los que un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxilo o carbonilo se une a cualquier grupo que puede escindirse in vivo para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre, sulfhidrilo libre, carboxilo libre o carbonilo libre, respectivamente.

Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres (por ejemplo, acetato, dialquilaminoacetatos, formiatos, fosfatos, sulfatos y derivados de benzoato) y carbamatos (por ejemplo, N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, grupos ésteres (por ejemplo, etilo ésteres, ésteres de morfolinoetanol) de grupos carboxilo funcionales, derivados de N-acilo (por ejemplo, N-acetil) N-bases de Mannich, bases de Schiff y enamionas de grupos amino funcionales, oximas, acetales, cetales y enol ésteres de grupos funcionales cetona y aldehído en compuestos y lo similar, ver Bundegaard, H. "Design of Prodrugs" p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

"Grupo protector" se refiere a una agrupación de átomos que, cuando se une a un grupo reactivo en una molécula, enmascara, reduce o impide esa reactividad. Pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores en Green y Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, (Wiley, 2a ed. 1991); Harrison y Harrison y otros, Compendium of Synthetic Organic Methods, Vol. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996); y Kocienski, Protecting Groups, (Verlag, 3ra edición 2003).

"Compuesto estable" y "estructura estable" significan que indican un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento en un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción, y la formulación en un agente terapéutico eficaz.

En la descripción, las formas singulares incluyen, además, al plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que se especifique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente descripción tienen el mismo significado que el conocido comúnmente por aquellos con experiencia en la técnica a la que pertenece esta invención. En el caso de conflicto, la presente descripción controlará.

Todos los porcentajes y relaciones que se usan en la presente descripción, a menos que se indique lo contrario, son en peso.

5 "Terapia de combinación" (o "coterapia") incluye la administración de un compuesto de la invención y al menos un segundo agente como parte de un régimen de tratamiento específico destinado a proporcionar el efecto beneficioso de la acción conjunta de estos agentes terapéuticos. El efecto beneficioso de la combinación incluye, pero no se limita a, co-acción farmacocinética o farmacodinámica que resulta de la combinación de agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación se lleva a cabo típicamente durante un período de tiempo definido (habitualmente minutos, horas, días o semanas en dependencia de la combinación seleccionada). La "terapia de combinación" puede, 10 pero generalmente no tiene la intención de, abarcar la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes de monoterapia separados que incidentalmente y arbitrariamente resultan en las combinaciones de la presente invención.

15 La "terapia de combinación" tiene la intención de adoptar la administración de estos agentes terapéuticos en una manera secuencial, que es, en donde cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, en una manera prácticamente simultánea. La administración prácticamente simultánea puede lograrse, por ejemplo, mediante la administración a un sujeto de una cápsula única que tiene una relación fija de cada agente terapéutico o en múltiples, cápsulas únicas para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o prácticamente simultánea de cada agente terapéutico puede 20 efectuarse por cualquier vía adecuada que incluye, pero no se limitan a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares, y la absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa. Los agentes terapéuticos pueden administrarse por la misma vía o por diferentes vías. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada puede administrarse por vía intravenosa mientras otros agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse oralmente. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos pueden administrarse oralmente o todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por inyección intravenosa. La secuencia en que se administran los agentes terapéuticos no es estrechamente crítica. 25

30 La "terapia de combinación" abarca la administración de los agentes terapéuticos como se describió anteriormente en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (por ejemplo, cirugía o tratamiento de radiación). Donde la terapia de combinación comprende adicionalmente un tratamiento no-fármaco, el tratamiento no-fármaco puede realizarse en cualquier momento adecuado hasta tanto se alcance el efecto beneficioso de la co-acción de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento sin fármaco. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso todavía se alcanza cuando el tratamiento sin fármaco se elimina temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizá por días o incluso semanas. 35

A lo largo de la descripción, cuando las composiciones se describen como que tienen, que incluyen o que comprenden componentes específicos, se contempla que las composiciones consisten, además, esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados. Similarmente, cuando los procesos se describen como que tienen, incluyen o comprenden etapas de proceso específicas, los procesos consisten, además, esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento enumeradas. Además, debe entenderse que el orden de las etapas o el orden para realizar ciertas acciones son inateriales siempre que la invención permanezca operativa. Además, dos o más etapas o acciones pueden llevarse a cabo simultáneamente. 40

45 Los compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, se administran oralmente, nasalmente, transdérmicamente, pulmonarmente, por inhalación, bucalmente, sublingualmente, intraperitonealmente, subcutáneamente, intramuscularmente, intravenosamente, rectalmente, intrapleuralmente, intratecalmente y parenteralmente. En una modalidad, el compuesto se administra oralmente. Un experto en la técnica reconocerá las ventajas de ciertas vías de administración.

50 El régimen de dosificación mediante el uso de los compuestos se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen el tipo, especie, edad, peso, sexo y condición médica del paciente, la severidad de la patología a tratar, la vía de administración, la función renal y hepática del paciente, y el compuesto en particular o la sal de este empleada. Un médico o un veterinario calificado normalmente pueden determinar fácilmente y prescribir la cantidad efectiva necesaria del fármaco para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la enfermedad. 55

Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos descritos de la invención pueden encontrarse en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19a edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). En una modalidad, los compuestos descritos en la presente descripción, y las sales farmacéuticamente aceptables de estos, se usan en preparaciones farmacéuticas en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen cargas o diluyentes sólidos inertes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. Los compuestos estarán presentes en tales composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar la cantidad de dosificación deseada en el intervalo descrito en la presente descripción. 60

65 En una modalidad, el compuesto se prepara para administración oral, donde los compuestos descritos o sus sales se combinan con un vehículo o diluyente sólido o líquido adecuado para formar cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y lo similar.

Las tabletas, píldoras, cápsulas y lo similar contienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 99 por ciento en peso del ingrediente activo y un aglutinante tal como goma tragacanto, acacias, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata o ácido algínico; un lubricante tal como estearato de magnesio; y/o un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa, sacarina, xilitol, y lo similar.

5 Cuando una forma de unidad de dosificación es una cápsula, frecuentemente contiene, además, de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como un aceite graso.

En algunas modalidades, varios otros materiales están presentes como recubrimiento o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, en algunas modalidades, las tabletas se recubren con goma laca, azúcar o ambos.

10 En algunas modalidades, un jarabe o elixir contiene, además, del ingrediente activo, sacarosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un tinte y un saborizante tal como sabor a cereza o naranja, y lo similar.

Para algunas modalidades relacionadas con la administración parenteral, los compuestos descritos, o sales, solvatos, tautómeros o polimorfos de estos, pueden combinarse con medios acuosos u orgánicos estériles para formar soluciones o suspensiones inyectables. En una modalidad, las composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas. Las composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, pueden contener, además, otras sustancias terapéuticamente valiosas. Las composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0,1 a 75 %, en otra modalidad, las composiciones contienen aproximadamente de 1 a 50 %, del ingrediente activo.

15

20

Por ejemplo, las soluciones inyectables se producen mediante el uso de solventes tales como aceite de sésamo o de cacahuete o propilenglicol acuoso, así como soluciones acuosas de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos solubles en agua. En algunas modalidades, las dispersiones se preparan en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de estos en aceites. Bajo condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos. Los términos "administración parenteral" y "administrados parenteralmente" como se usan en la presente descripción significa modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, generalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

25

30

Para la administración rectal, las composiciones farmacéuticas adecuadas son, por ejemplo, preparaciones tópicas, supositorios o enemas. Los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Las composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, pueden contener, además, otras sustancias terapéuticamente valiosas. Las composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0,1 a 75 %, en otra modalidad, las composiciones contienen aproximadamente de 1 a 50 % del ingrediente activo.

35

40

En algunas modalidades, los compuestos se formulan para liberar el agente activo mediante administración pulmonar, por ejemplo, administración de una formulación en aerosol que contiene el agente activo de, por ejemplo, un pulverizador de bomba manual, nebulizador o inhalador presurizado de dosis medida. En algunas modalidades, las formulaciones adecuadas de este tipo incluyen, además, otros agentes, tales como agentes antiestáticos, para mantener los compuestos descritos como aerosoles eficaces.

45

Un dispositivo de suministro de fármaco para administrar aerosoles comprende un recipiente de aerosol adecuado con una válvula dosificadora que contiene una formulación de aerosol farmacéutica como se describe y una carcasa del actuador adaptada para contener el recipiente y permitir la administración de fármaco. El bote en el dispositivo de suministro de medicamento tiene un espacio superior que representa más de aproximadamente el 15 % del volumen total del bote. A menudo, el polímero destinado a la administración pulmonar se disuelve, suspende o emulsiona en una mezcla de un solvente, agente surfactante y propelente. La mezcla se mantiene bajo presión en un bote que se sella con una válvula dosificadora.

50

Para la administración nasal, puede usarse un transportador sólido o líquido. El vehículo sólido incluye un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula en el intervalo de, por ejemplo, de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 micrómetros y tal formulación se administra por inhalación rápida a través de los conductos nasales. En algunas modalidades en las que se usa el vehículo líquido, la formulación se administra como un aerosol nasal o gotas e incluye aceite o soluciones acuosas de los ingredientes activos.

55

60

Los reactivos activos pueden prepararse con portadores que protegerán contra la eliminación rápida del cuerpo. Por ejemplo, puede usarse una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etileno y acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales pueden obtenerse, además, comercialmente de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposómicas (que incluyen liposomas

65

dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) pueden usarse, además, como portadores farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 4,522,811.

5 Las composiciones y formulaciones de la presente invención pueden comprender, además, uno o más desecantes. Los desecantes adecuados que pueden usarse en la presente invención son los que son farmacéuticamente seguros, e incluyen, por ejemplo, calidades farmacéuticas de gel de sílice, aluminosilicato de sodio cristalino, potasio o calcio, sílice coloidal, sulfato de calcio anhidro y lo similar. El desecante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1,0 % al 20,0 %, o de aproximadamente el 2 % al 15 % en p/p (o cualquier valor dentro de dicho intervalo).

10 Se contemplan, además, formulaciones que son formas de dosificación de dispersión rápida, conocidas, además, como formas de "dosis instantánea". En particular, algunas modalidades de la presente invención se formulan como composiciones que liberan sus ingredientes activos en un corto período de tiempo, por ejemplo, típicamente menos de aproximadamente cinco minutos, en otra modalidad, menos de aproximadamente noventa segundos, en otra modalidad, menos de aproximadamente treinta segundos y en otra modalidad, en menos de aproximadamente diez o quince segundos. Tales formulaciones son adecuadas para la administración a un sujeto a través de una variedad de vías, por ejemplo, mediante inserción en una cavidad corporal o aplicación a una superficie corporal húmeda o herida abierta.

15 Típicamente, una "dosificación instantánea" es una forma de dosificación sólida que se administra oralmente, que se dispersa rápidamente en la boca, y por lo tanto no requiere gran esfuerzo al tragar y permite que el compuesto sea rápidamente ingerido o absorbido a través de las membranas de la mucosa oral. En algunas modalidades, las formas de dosificación de dispersión rápida adecuadas se usan, además, en otras aplicaciones, que incluyen el tratamiento de heridas y otras lesiones corporales y estados enfermos en los que no es posible la liberación del medicamento por humedad suministrada externamente.

20 Las formas de "dosis instantánea" se conocen en la técnica; ver, por ejemplo, formas de dosificación efervescentes y recubrimientos de liberación rápida de micropartículas insolubles en las patentes de los Estados Unidos núm. 5,578,322 y 5,607,697; espumas y líquidos liofilizados en las patentes de los Estados Unidos núm. 4,642,903 y 5,631,023; hilado por fusión de formas de dosificación en las patentes de los Estados Unidos núm. 4,855,326, 5,380,473 y 5,518,730; fabricación de forma libre, sólida en la patente de los Estados Unidos núm. 6,471,992; matriz portadora basada en sacáridos y un aglutinante líquido en las patentes de los Estados Unidos núm. 5,587,172, 5,616,344, 6,277,406, y 5,622,719; y otras formas conocidas en la técnica.

25 Los compuestos de la invención se formulan, además, como formulaciones de "liberación pulsada", en las que el compuesto se libera de las composiciones farmacéuticas en una serie de liberaciones. (*es decir*, pulsos). Los compuestos se formulan, además, como formulaciones de "liberación sostenida" en las que el compuesto se libera continuamente de la composición farmacéutica durante un período prolongado.

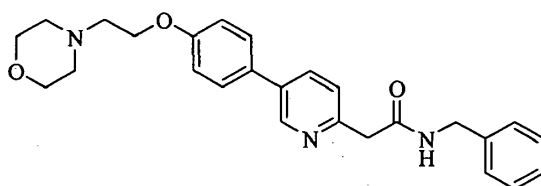
30 Se contemplan, además, formulaciones, *por ejemplo*, formulaciones líquidas, que incluyen agentes de encapsulación o de solvatación cíclicos o acíclicos, *por ejemplo*, ciclodextrinas, poliéteres o polisacáridos (*por ejemplo*, metilcelulosa), o en otra modalidad, derivados de β -ciclodextrina polianiónicos con un grupo de sal de sulfonato de sodio separado de la cavidad lipofílica por un grupo espaciador de éter de alquilo o polisacáridos. En una modalidad, el agente es metilcelulosa. En otra modalidad, el agente es un derivado de β -ciclodextrina polianiónico con una sal de sulfonato sódico separada de la cavidad lipofílica por un grupo espaciador de éter butílico, *por ejemplo*, CAPTISOL® (CyDex, Overland, KS). Un experto en la técnica puede evaluar relaciones de formulación de agente/compuesto descrito adecuadas mediante la preparación de una solución del agente en agua, *por ejemplo*, una solución al 40 % en peso; mediante la preparación de diluciones seriadas, *por ejemplo*, para preparar soluciones de 20 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 0 % (control), y lo similar; adicionar un exceso (comparado con la cantidad que puede ser solubilizada por el agente) del compuesto descrito; mezclar en condiciones apropiadas, *por ejemplo*, calentamiento, agitación, sonicación, y lo similar; centrifugar o filtrar las mezclas resultantes para obtener soluciones transparentes; y analizar las soluciones para la concentración del compuesto descrito.

35 No se pretende que la mención de publicaciones y de documentos de patentes sea una admisión de que alguna constituya técnica previa pertinente, ni constituye ninguna admisión en cuanto al contenido o la fecha de estos. Una vez descrita la invención por medio de una descripción escrita, los expertos en la técnica reconocerán que la invención puede ponerse en práctica en una variedad de modalidades y que la descripción anterior y los ejemplos a continuación son con fines ilustrativos y no limitativos de las reivindicaciones que siguen.

EJEMPLOS

60 Ejemplo 1: Síntesis a pequeña escala de KX2-391

65



5

10

La síntesis preliminar descrita a continuación se ilustró en el documento US20060160800A1. Este procedimiento es útil para reacciones a pequeña escala, por ejemplo, reacciones que producen hasta 50 g de producto.

15

20

Para la siguiente síntesis, a menos que se indique lo contrario, se usaron reactivos y solventes tal como se recibieron de proveedores comerciales. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protones y carbono se obtuvieron en un espectrómetro Bruker AC 300 o Bruker AV 300 a 300 MHz para el de protones y 75 MHz para el carbono. Los espectros se dan en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento, J , se informan en Hertz. Se usó tetrametilsilano como patrón interno para los espectros de protones y el pico de solvente se usó como el pico de referencia para los espectros de carbono. Los espectros de masas y los datos de masa de LC-MS se obtuvieron en un espectrómetro de masas Perkin Elmer Sciex 100 de ionización a presión atmosférica (APCI). Los análisis de LC-MS se obtuvieron mediante el uso de una columna Luna C8(2) (100 × 4,6 mm, Phenomenex) con detección UV a 254 nm mediante el uso de un programa estándar de gradiente de solvente (Método B). La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó mediante el uso de placas de gel de sílice Analtech y se visualizó mediante luz ultravioleta (UV), yodo o 20 % en peso de ácido fosfomolibdico en etanol. Los análisis de HPLC se obtuvieron mediante el uso de una columna Prevail C18 (53 x 7 mm, Alltech) con detección UV a 254 nm mediante el uso de un programa estándar de gradiente de solvente (Método A o B).

25

Método A:

A = Agua con 0,1 v/v de ácido trifluoroacético

B = Acetonitrilo con 0,1 v/v de ácido trifluoroacético

30

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	% de A	% de B
0,0	3,0	95,0	5,0
10,0	3,0	0,0	100,0
11,0	3,0	0,0	100,0

35

Método B:

A = Agua con 0,02 v/v de ácido trifluoroacético

B = Acetonitrilo con 0,02 v/v de ácido trifluoroacético

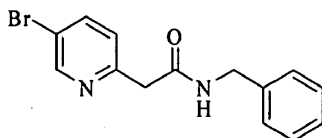
40

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	% de A	% de B
0,0	2,0	95,0	5,0
4,0	2,0	5,0	95,0

45

Síntesis de N-bencil-2-(5-bromopiridin-2-il)acetamida:

50



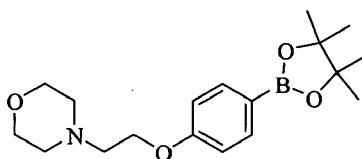
55

Se cargó un matraz con 5-(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (1,039 g, 3,46 mmol), bencilamina (0,50 mL, 4,58 mmol) y tolueno (20 mL). La reacción se llevó a reflujo bajo nitrógeno durante 18 horas, después se enfrió y se colocó en un congelador hasta que estuvo fría. El producto se recolectó por filtración y se lavó con hexanos para producir una masa de cristales blancos brillantes (1,018 g, 96 %).

60

Síntesis de 4-(2-(4-(4,4,5,5-tetrametildioxaborolan-2-il)-fenoxi)etil)morfolina:

65



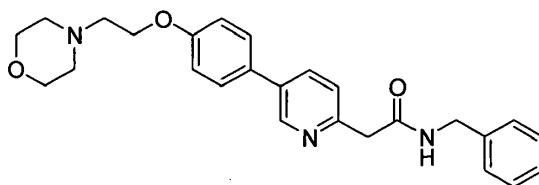
5

10

15

A una solución en agitación de 4-(4,4,5,5-tetrametildioxaborolan-2-il)-fenol (2,55 g, 11,58 mmol), 2-morfolino-4-iletanol (1,60 mL, 1,73 g, 13,2 mmol) y se adicionó trifenilfosfina (3,64 g, 13,9 mmol) en cloruro de metileno (60 mL) a 0 °C gota a gota de DIAD (2,82 g, 13,9 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Después de 18 horas, se adicionaron porciones adicionales de trifenilfosfina (1,51 g, 5,8 mmol), 2-morfolino-4-iletanol (0,70 mL, 5,8 mmol) y DIAD (1,17 g, 5,8 mmol). Después de agitar durante 2 horas adicionales a temperatura ambiente, la reacción se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (5 % a 25 % de EtOAc en CHCl₃) para proporcionar el producto como un sólido blanco (2,855 g, 74 %).

Síntesis de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida KX2-391



20

25

30

35

Un tubo de reacción de 10 mL con cierre de tabique y barra de agitación se cargó con N-bencil-2-(5-bromopiridin-2-il)acetamida (123 mg, 0,403 mmol), 4-(2-(4-(4,4,5,5-tetrametildioxaborolan-2-il)-fenoxi)etil)morfolina (171 mg, 0,513 mmol) y FibreCat 1007¹ (30 mg, 0,015 mmol). Se adicionó etanol (3 mL), seguido de una solución acuosa de carbonato de potasio (0,60 mL, 1,0 M, 0,60 mmol). El tubo se selló y se calentó en condiciones de microondas a 150 °C durante 10 minutos. La reacción se enfrió y se concentró para eliminar la mayor parte del etanol, y después se recogió en 10 mL de acetato de etilo y se lavó sucesivamente con agua y una solución saturada de cloruro sódico. La capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró para obtener un sólido blanco. Este sólido blanco se trituroó con éter etílico para obtener KX2-391 como un sólido blanco (137 mg, 79 %): mp 135-137 °C.; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,70 (d, 1H, J=2,0 Hz), 7,81 (dd, 1H, J=2,4 Hz, J=8,0 Hz), 7,65 (br s, 1H), 7,49 (d, 2H, J=8,8 Hz), 7,37-7,20 (m, 6H), 7,01 (d, 2H, J=8,8 Hz), 4,49 (d, 2H, J=5,8 Hz), 4,16 (t, 2H, J=5,7 Hz), 3,82 (s, 2H), 3,78-3,72 (m, 4H), 2,84 (t, 2H, J=5,7 Hz), 2,62-2,58 (m, 4H); HPLC (Método B) 98,0 % (AUC), t_R = 1,834 min.; APCI MS m/z 432⁺.

¹ Di(acetato)diclohexilfenilfosfinapaladio(II) unido a polímero, fabricado por Johnson Matthey, Inc. y disponible en Aldrich (catálogo # 590231).

40

Ejemplo 2: Síntesis a escala intermedia de dihidrocloruro de KX2-391

45

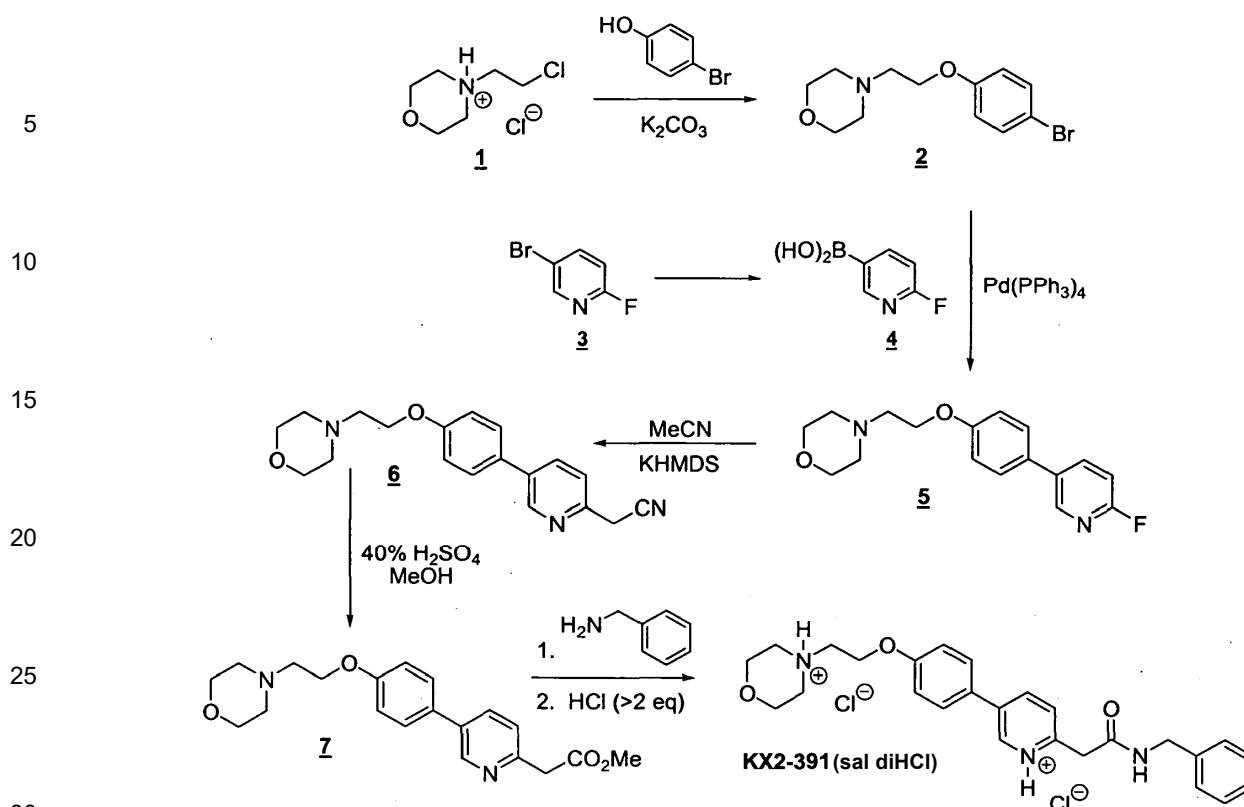
La síntesis descrita en este ejemplo puede usarse en reacciones a escala intermedia. La preparación de lotes de al menos 50 g de la sal de dihidrocloruro de KX2-391 se muestra en el Esquema 1. La síntesis lineal consistió en 6 etapas, la séptima etapa es la preparación de uno de los reactivos, ácido 6-fluoropiridin-3-ilborónico (que también está disponible comercialmente). El rendimiento global de la secuencia fue del 35 % con un rendimiento promedio del 83 %, la etapa de rendimiento más bajo es la de 68 %. De los siete pasos solo uno requirió cromatografía. El procedimiento que se detalla a continuación se realizó en una escala de 70 g.

50

55

60

65



La primera etapa es una síntesis de éter de Williamson entre 4-bromofenol (131 g) y N-cloroetilmorfolina (1 como la sal de HCl; 141 g) mediante el uso de polvo de K_2CO_3 (de 3 a 3,5 equivalentes) como base y con acetonitrilo como solvente. Los ingredientes se mezclaron y se agitaron a reflujo durante toda la noche con alta conversión (96,3-99,1 %). Después de la dilución con diclorometano y heptano, la mezcla de reacción se filtró y se evaporó para obtener el producto deseado 2 esencialmente con un rendimiento cuantitativo (216 g). Tenga en cuenta que con sustratos similares (por ejemplo, 4-bromo-3-fluorofenol), las conversiones (incluso con calentamiento extensivo) no siempre fueron tan altas (por ejemplo, 59,9-98,3 %). Tanto el cloruro de alquilo como el K_2CO_3 se adquieren, preferentemente, de Aldrich. Si el calentamiento continuo no conduce la reacción hasta su finalización, el bromofenol que no reaccionó puede eliminarse fácilmente mediante la disolución de la mezcla de reacción en bruto en 4 partes de tolueno y mediante el lavado del fenol con 4 partes de NaOH acuoso al 15 %.

Uno de los reactivos necesarios para la segunda etapa (acoplamiento de Suzuki) fue ácido 6-fluoropiridin-3-ilborónico (4). Aunque disponible comercialmente, este reactivo se preparó fácilmente mediante intercambio de litio-bromo de 5-bromo-2-fluoropiridina (3, 102 g) con n-butillitio (1,2 eq) a bajas temperaturas ($<-60\text{ }^\circ\text{C}$) en TBME seguido de la adición de triisopropilborato (1,65 eq). Ambas etapas de la reacción son breves, con un tiempo de reacción global (incluidos los tiempos de adición) de ~ 3 h. La inactivación se logra con NaOH acuoso al 24 %, que extrae, además, el producto y deja impurezas en la capa orgánica. Una vez que se elimina la capa acuosa, se neutraliza después con HCl y se extrae con EtOAc. Después de secar los orgánicos y diluir con algo de heptano, la concentración conduce a la precipitación/cristalización del producto. La filtración dio el ácido borónico 4 con una pureza relativamente alta (96,4 % AUC) y un buen rendimiento (69 g, 79-90 %, ver la nota sobre la estimación del rendimiento en la sección experimental), que puede usarse sin purificación adicional.

La segunda etapa de reacción en la secuencia lineal (un acoplamiento de Suzuki) es una reacción simple de configuración; todos los reactivos se cargaron al matraz de reacción y la mezcla se calentó a reflujo; tenga en cuenta que la mezcla de reacción se desgasificó para eliminar el oxígeno. Una vez que la reacción se completa (en 7 h), el tratamiento involucró la decantación (o sifonaje) de la solución de reacción de las sales orgánicas en el lado del matraz (no había capa acuosa visible), se enjuagó el matraz y se secó y el solvente se eliminó de los compuestos orgánicos combinados. La cristalización del crudo 5 a partir de isopropanol/heptano proporcionó un material de pureza mejorada en comparación con el crudo, pero aun así requirió de cromatografía (relación de gel de sílice con respecto al crudo $\sim 8,5:1$) para obtener material de pureza adecuada ($> 98\%$); el rendimiento fue del 68 % (79,5 g). El uso de 5 limpio impidió la necesidad de usar la cromatografía en la siguiente etapa, el desplazamiento de acetonitrilo del átomo de flúor.

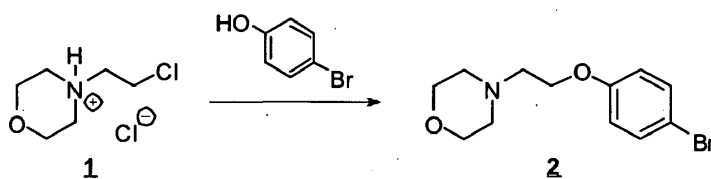
El reemplazo de fluoruro con acetonitrilo también fue una reacción simple, y una simple cristalización a temperatura ambiente del producto crudo proporcionó 6 limpio con alto rendimiento y pureza. La reacción implicó la formación inicial del "enolato" a partir de acetonitrilo (6,5 eq) mediante el uso de hexametildisilano de potasio KHMDS (8 eq)/THF at $-10\text{ }^\circ\text{C}$ seguido inmediatamente por la adición de fluoruro 5 (79 g). La reacción fue rápida y después de una hora se logró la inactivación con salmuera saturada. Después del secado y evaporación del solvente de los compuestos orgánicos, la

mezcla cruda resultante consistió en solo dos componentes, el producto deseado y un producto mucho menos polar a partir de la autocondensación aparente de acetonitrilo. La mezcla cruda se agitó en isopropanol/heptano y se dejó reposar durante toda la noche, lo que dio como resultado la cristalización completa del producto, que se separó por filtración y se lavó para proporcionar **6** con una alta pureza (99,3 % AUC) con buen rendimiento (64 g, 76 %).

La metanolisis de **6** (64 g) se realizó mediante el calentamiento en 40 % de H₂SO₄ (en MeOH) hasta que la reacción se completó (25 h). La reacción se enfrió después, se agitó con MgSO₄ para convertir trazas del producto hidrolizado (ArCH₂-CO₂Me) de nuevo en el producto, y después se adicionó a K₂CO₃ acuosa, enfriada con extracción simultánea en diclorometano. El secado y evaporación de la mayor parte del DCM seguido de la adición de EtOAc al 5 % (en heptano) y la concentración adicional dieron como resultado la cristalización del producto. La filtración del sólido y el lavado dieron **7** con alta pureza (98,9 % AUC) con buen rendimiento (82 %), se obtuvo un producto de alta pureza adicional (4 g) de los líquidos madres para un rendimiento total de 61.7 g (87 %).

La etapa de amidación implicó, además, cargar el recipiente de reacción con los ingredientes (**7** (61 g), bencil amina (3 eq) y anisol de alto punto de ebullición) y después calentar a reflujo hasta que se completó la reacción. El enfriamiento de la mezcla de reacción dio como resultado la cristalización completa del compuesto objetivo con alta pureza (98,9 %) y buen rendimiento (81 %).

La etapa final fue la formación de la sal dihidroclórica del compuesto objetivo. Con el fin de asegurar la protonación completa en ambos sitios básicos, la reacción se realizó en etanol absoluto, que disolvió libremente la sal de dihidrocloruro. Después de la evaporación hasta casi sequedad, la mezcla de reacción se "agregó" con etanol dos veces para eliminar el exceso de cloruro de hidrógeno. El aceite viscoso resultante se disolvió en etanol (2 partes) y después se adicionó, con agitación rápida, a un volumen grande (20 partes) de EtOAc (acetato de etilo). La filtración, el lavado con acetato de etilo (sin heptano) y el secado al vacío proporcionaron la sal dihidrocloruro de KX2-391 en forma de un polvo de color blanco cremoso. Se obtuvo un total de 68 g (rendimiento del 97 %) de la sal final en alta pureza (99,6 % AUC), que contenía trazas de EtOAc (4.8 % p/p), EtOH (0,3 % p/p) y heptano (0,6 % p/p) a partir de un lavado final con heptano antes del secado al vacío). Esta sal también se cristalizó (en lugar del método de precipitación descrito anteriormente) a partir de EtOH/EtOAc caliente para proporcionar perlas cristalinas que tenían niveles de solvente atrapado mucho más bajos (solo 0,26 % p/p de EtOAc y 0,45 % p/p de EtOH) y fue por flujo libre.

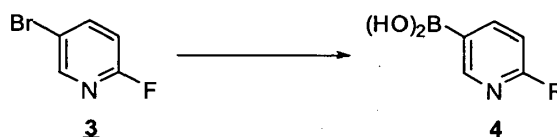


Preparación de 4-(2-(4-bromofenoxy)etil)morfolina (**2**):

Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 5 L, equipado con un agitador mecánico, termómetro con adaptador, condensador y entrada de nitrógeno (en la parte superior del condensador), se cargó con **1** (140,7 g, 0,756 mol), 4-bromofenol (130,6 g, 0,755 mol), K₂CO₃ anhidro en polvo (367,6 g, 2,66 mol, 3,5 eq) y acetonitrilo (1,3 L). La mezcla se agitó vigorosamente (la cuchilla tocaba el fondo del matraz) a 80 °C (durante toda la noche), seguido de la dilución con DCM (500 mL) y heptano (200 mL) y filtración a través de Celita. La evaporación a sequedad (rotovap, después alto vacío) dio **2** como un aceite amarillo claro (216,00 g, rendimiento de 100 %, 96,3 % AUC, contiene 3,7 % de bromofenol sin reaccionar). Este material se usó con éxito sin purificación adicional.

¹H NMR (CDCl₃) δ 2,57 (t, 4 H), 2,79 (t, 2 H), 3,73 (t, 4 H), 4,08 (t, 2 H), 6,78 (d, 2 H), 7,37 (d, 2 H). MS (a partir de LC/MS): *m/z* 287.1.

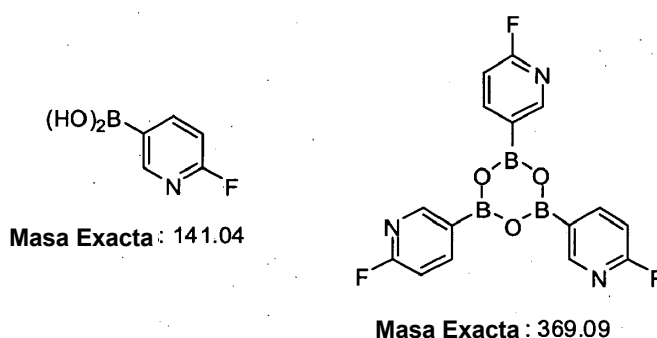
Que el bromofenol puede eliminarse fácilmente se demostró en una muestra de 2 g mediante la disolución primero de la muestra en tolueno (8 g) y el lavado con 8 g de NaOH acuoso al 15 %; la cromatografía líquida no mostró trazas de bromofenol sin reaccionar en el producto recuperado (1,97 g, recuperación del 98,5 %).



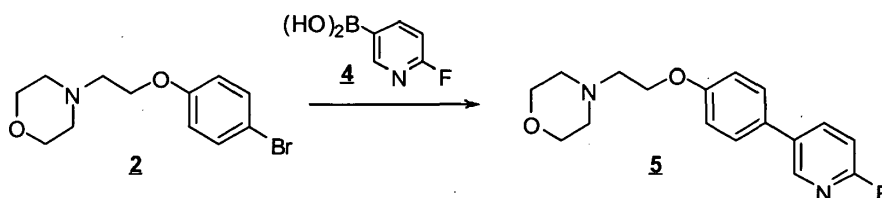
Preparación de ácido 6-fluoropiridin-3-ilborónico (**4**):

Al anhidro agitado y enfriado (baño de acetona en hielo seco) (620 mL, en un matraz de fondo redondo de tres cuellos y 3 L equipado con agitador mecánico, sonda de temperatura con adaptador y entrada de nitrógeno) se adicionó (mediante una jeringa) BuLi 2 M (352 mL, 0,704 mol, 1,2 eq). A esta mezcla rápidamente agitada y enfriada (<-75 °C) se adicionó una solución de **3** (102,2 g, 0,581 mol) en TBME anhidro (100 mL) durante un período de 13 min tiempo durante el cual la temperatura interna aumentó a -62 °C. La reacción se agitó durante otros 45 minutos (la temperatura se mantuvo entre

-62 °C y -80 °C), seguido de la adición rápida y secuencial de cuatro porciones de borato de trisopropilo (un total de 180 g, 0,957 mol, 1,65 eq). Al final de la adición la temperatura interna había subido a -33 °C. Después de agitar durante 45 min adicionales sobre el baño frío (la temperatura interna bajó de -33 °C a -65 °C), se retiró el baño frío y la mezcla agitada en sí misma se elevó a -22 °C durante un período de 50 min. Después del calentamiento (vía baño de agua) a 6 °C durante un período de 15 minutos, la mezcla de reacción agitada se colocó en un baño de agua con hielo y después se inactivó en nitrógeno con una solución de NaOH enfriada (160 g) en agua (500 mL). Una vez que se completó la adición, la temperatura interna fue de 20 °C. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La capa acuosa se eliminó, se neutralizó a pH 7 con ~350 mL de HCl concentrado, y después se extrajo con EtOAc (3 x 1 L). Debido a que el pH era ahora 8-9, la capa acuosa se ajustó a pH 7 mediante el uso de ~15 mL de HCl concentrado y se extrajo adicionalmente (2 x 1 L) con acetato de etilo. Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a un volumen de ~150 mL. Con la agitación del concentrado, se adicionó heptano en porciones (volumen total de 300 mL) que dio como resultado la precipitación/cristalización del producto. La filtración, el lavado del sólido con heptano (100 mL, 300 mL, después otros 300 mL) y el secado al aire dieron el producto del título como un sólido blanquecino (68,6 g, rendimiento del 79-90 %*; pureza por LC de 96,4 %, NMR mostró una estimación del 5,5 % p/p de heptano), que se usó con éxito sin purificación adicional. La LC/MS mostró que era una mezcla de las dos entidades siguientes, la intensidad de la entidad de mayor peso molecular principal fue mayor (*Nota: el rendimiento de la reacción es del 79 % si se asume que el ácido borónico es el único constituyente y es del 90 % si se supone que el borato cíclico es el único constituyente):



¹H NMR (CDCl₃) δ 7,14 (dd, 1 H), 8,27 (ddd, 1 H), 8,39 (br s, 2 H, 2 OH), 8,54 (ajuste d, 1 H). MS (a partir de LC/MS): m/z 143.0 y 370.0.

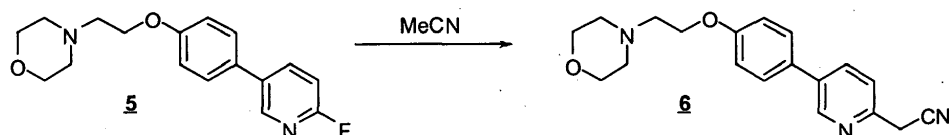


Preparación de 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5):

Un matraz de fondo redondo de tres cuellos y 2 L equipado con agitador mecánico, termómetro y adaptador, condensador y entrada de nitrógeno (en la parte superior del condensador) se cargó con 2 (110,7 g, 0,387 mol), 4 (71,05 g, 0,477 mol, 1,23 eq) y DME (700 mL). La solución agitada resultante se desgasificó mediante el pase de una corriente rápida de nitrógeno a través de la solución agitada durante un período de 5 minutos seguido de la adición de una solución desgasificada de Na₂CO₃ (121,06 g, 1,142 mol, 3 eq) en H₂O (250 mL) y también en Pd sólido (PPh₃)₄ (19,8 g, 0,044 eq). Inmediatamente después de la última adición, el espacio superior sobre la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno y la mezcla se agitó después a 80-85 °C (temperatura interna) durante 7 h, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente. Debido a la falta de una capa acuosa, el sobrenadante se decantó, y dejó atrás las sales inorgánicas (con agua adsorbida). El matraz de reacción con las sales inorgánicas se lavó con 50 % de diclorometano/acetato de etilo (2 x 250 mL), y los lavados se adicionaron al sobrenadante decantado. Estos compuestos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron a sequedad para obtener un aceite de color pardo oscuro (148 g). A este aceite se adicionaron 150 g de heptano/alcohol isopropílico al 50 % (IPA) y, después de agitar y enfriar (mediante un baño de agua con hielo), comenzó la cristalización. Se adicionó heptano adicional (50 g) y el sólido resultante se filtró, se lavó y se secó al aire para obtener 48 g de un sólido marrón claro. Después de evaporar el filtrado a sequedad, la mezcla resultante se agitó en 100 mL de heptano/IPA al 50 % seguido de la adición de más heptano (~100 mL), se taponó y se colocó en el congelador para la cristalización. El sólido resultante se filtró, se lavó con heptano y se secó al aire para obtener 61 g de un sólido gomoso. La evaporación del filtrado resultante dio un aceite (34 g) que contenía impurezas menos polares significativas que incluyen Ph₃P=O y así se repartió entre HCl 2 N (240 mL) y EtOAc (220 mL). La capa acuosa inferior se retiró y después se agitó con EtOAc mientras se neutralizaba con K₂CO₃ a un pH de 7-8. La capa de EtOAc se secó, se filtró y se evaporó a sequedad (22 g). Las porciones de 48 g, 61 g y 22 g se sometieron a cromatografía sobre gel de sílice (1,1 kg) envasadas en DCM. La elución con DCM (400 mL), 50 % de DCM/EtOAc (5 L) y después 50 % de DCM/EtOAc (8 L)

que contiene cantidades crecientes de MeOH/Et₃N (con inicio con 1,5 % de MeOH/1 % de Et₃N y termina con 5 % de MeOH/3 % de Et₃N) dio 77,68 g de un aceite viscoso (pureza 98,0 %) que cristalizó inmediatamente al agitarse en heptano (300 mL). La filtración, el lavado con heptano y el secado al aire dieron 75,55 g (98,7 % AUC) de sólido 5. Se obtuvo 5 puro adicional (total de 3,9 g, 98,6-99,3 % AUC) a partir de fracciones cromatográficas anteriores que contenían Ph₃P=O al limpiarlas como se hizo para la muestra de 34 g anterior, seguido de cristalización evaporativa. El rendimiento total de 5 fue de 79,5 g (68 %).

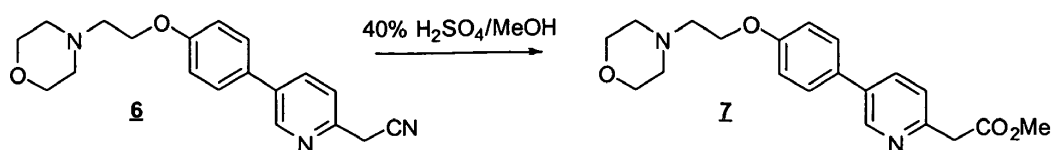
¹H NMR (CDCl₃) δ 2,59 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,75 (t, 4 H), 4,16 (t, 2 H), 6,97 (dd, 1 H), 7,01 (d, 2 H), 7,46 (d, 2 H), 7,92 (ddd, 1 H), 8,37 (ajuste d, 1 H). MS (a partir de LC/MS): *m/z* 303.2.



Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetone nitrilo (6):

Se equipó un matraz de fondo redondo de tres cuellos y 3 L con agitador mecánico, termómetro y adaptador, embudo adicional y entrada de nitrógeno (sobre el embudo de adición, presión positiva a través de un burbujeador). Con una corriente rápida de nitrógeno que pasa a través del burbujeador, se retiró el tapón y el matraz se cargó con KHMDS (415,8 g, 2,08 mol) y después THF anhidro (1 L). A la solución de KHMDS/THF agitada y enfriada (baño de hielo/metanol, temperatura interna de la solución fue -8 °C) se adicionó gota a gota una solución de MeCN (70 g) en THF (110 mL) durante un período de 22 minutos, seguido inmediatamente por la adición relativamente rápida (4 minutos) de una solución de 5 (79,06 g, 0,262 mol) en THF (400 mL), después de lo cual la temperatura interna de la mezcla de reacción alcanzó 10 °C. Con el enfriamiento continuo (1 h) la temperatura interna fue de -6 °C y mediante TLC la reacción pareció completa. Después de 30 minutos adicionales (temperatura interna de -3 °C), la mezcla de reacción se inactivó con salmuera saturada (1 L) y se diluyó con EtOAc (500 mL). Después de eliminar la capa acuosa, la solución orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó a sequedad (hasta un aceite) seguido de disolución completa en IPA (150 mL), dilución con heptano (300 mL), adición de cristales de siembra (preparados mediante la disolución de ~100 mg de aceite crudo en IPA (~150 mg) y dilución con heptano (~2,5 mL)) y dejar reposar durante toda la noche. Después de agitar para disgregar el sólido cristalino, el sólido se filtró, se lavó con 250 mL de heptano/IPA 2:1 y después se lavó múltiples veces con heptano y se secó al aire para obtener 64,38 g (rendimiento del 76 %) del producto del título 6 como un sólido de color canela cristalino (pureza por LC del 99,3 %). Se obtuvieron otros 5,88 g de material menos puro a partir del filtrado.

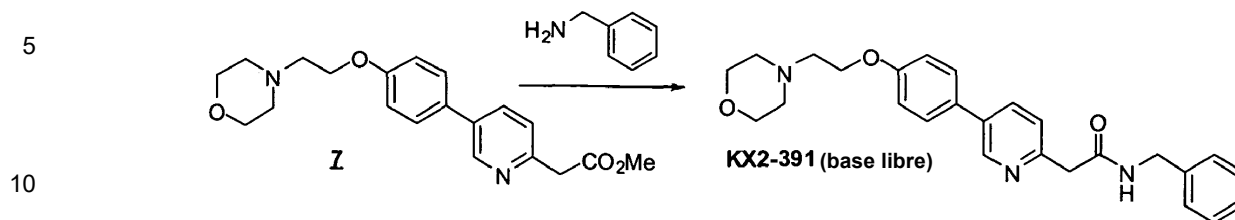
¹H NMR (CDCl₃) δ 2,59 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,74 (t, 4 H), 3,97 (s, 2 H), 4,17 (t, 2 H), 7,02 (d, 2 H), 7,46 (d, 1 H), 7,51 (d, 2 H), 7,87 (dd, 1 H), 8,77 (ajuste d, 1 H). MS (a partir de LC/MS): *m/z* 324.4.



Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato de metilo (7):

Un matraz de fondo redondo de 2 L de un solo cuello se cargó con 6 (64,00 g, 0,198 mol) y MeOH (360 g) seguido de la adición lenta, cuidadosa y gota a gota de H₂SO₄ (240 g) y la solución homogénea resultante se agitó a reflujo (baño de aceite a 115 °C) hasta que la reacción se completó (25 h con 0,8 % de material de partida sin reaccionar) con 3,5 % de ArCH₂CO₂H. Después de un breve enfriamiento, se adicionó MgSO₄ (75 g) y la mezcla se agitó y se dejó reposar durante 45 min adicionales (composición ahora 96,3 % de producto, 0,8 % de material de partida sin reaccionar y 2,5 % de ArCH₂CO₂H). La mezcla de reacción se adicionó después lentamente a una mezcla de DCM (2 L) y una solución de K₂CO₃ (450 g) rápidamente agitada y enfriada (agua helada) en H₂O (600 mL). La emulsión resultante se dejó en reposo durante toda la noche. Las partes limpias de la solución orgánica se extrajeron por sifón y las porciones restantes se trataron de forma iterativa con agua y DCM, y se combinaron los compuestos orgánicos transparentes con la parte original que se extrajo por sifón. Los compuestos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron hasta un volumen de ~1,2 L seguido de la adición de 300 mL de 5 % de EtOAc (en heptano) y después heptano (300 mL) y la mezcla se concentró (rotavapor con calor) nuevamente para eliminar el DCM. En este punto se adicionaron 15 mL de EtOAc y la mezcla caliente se agitó hasta que comenzó la cristalización, se continuó la agitación hasta que la cristalización estuvo casi completa, y después se dejó reposar y se enfrió a temperatura ambiente para la cristalización completa. El sólido se filtró a continuación, se lavó con 300 mL de EtOAc al 5 % (en heptano) y heptano (100 mL) y después se secó al aire para obtener 57,74 g (rendimiento del 82 %) de 7 como un sólido amarillo claro (98,9 % AUC). Se obtuvieron otros 3,94 g de producto limpio (97,9 % AUC) a partir del filtrado (rendimiento total del 87 %).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,60 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,74 (superponiendo t y s, 6 H), 3,89 (s, 2 H), 4,17 (t, 2 H), 7,01 (d, 2 H), 7,34 (d, 1 H), 7,49 (d, 2 H), 7,80 (dd, 1 H), 8,74 (ajuste d, 1 H). MS (a partir de LC/MS): m/z 357.4.



Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (base libre de KX2-391).

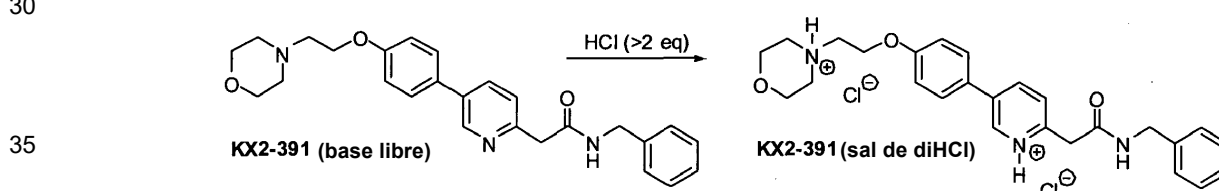
15 Se cargó un matraz de fondo redondo de 1 L de un solo cuello con 7 (61,4 g, 0,172 mol), bencil amina (55,6 g, 0,519 mol, 3 eq) y anisol anhidro (300 g) y después se agitó a reflujo hasta que la reacción se completó esencialmente (23 h, temperatura del baño de aceite a 165 °C, la temperatura interna fue de 147 °C) y después se dejó enfriar hasta casi la temperatura ambiente. Una porción (1 mL) de la mezcla de reacción se diluyó con tolueno (1 mL) y dio como resultado la cristalización completa de esa porción. Esta semilla se adicionó después a la mezcla de reacción y se dejó reposar hasta que la mezcla de reacción completa se cristalizó en un solo bloque. Se adicionó tolueno (150 mL) y la mezcla se agitó para disgregar el sólido. Se adicionó heptano/tolueno (1:1, 100 mL) y la mezcla sólida se disgregó adicionalmente. Finalmente, se adicionó heptano (50 mL, después 25 mL) y la mezcla se disgregó aún más, y se permitió que permaneciera 30 minutos más antes de filtrar el sólido. La filtración del sólido, lavado con tolueno/heptano 2:1 (300 mL), tolueno/heptano 1:2 (300 mL), y después heptano (2 x 300 mL), y después secado (aire, después alto vacío) dio 60,16 g (rendimiento del 81 %) del producto del título como un sólido blanco ($\geq 98,9$ % AUC). Se obtuvieron otros 2,5 g de material menos puro (97,4 %) de los líquidos madre.

20

25

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,60 (t, 4 H), 2,83 (t, 2 H), 3,74 (t, 4 H), 3,82 (s, 2 H), 4,18 (t, 2 H), 4,49 (d, 2 H), 7,01 (d, 2 H), 7,2-7,35 (m, 6 H), 7,49 (d, 2 H), 7,64 (br t, 1 H), 7,81 (dd, 1 H), 8,69 (ajuste d, 1 H). MS (a partir de LC/MS): m/z 432.5.

30



Preparación de cloruro de 4-(2-(4-(6-(2-(bencilamino)-2-oxoetil)piridinio-3-il)fenoxi)etil)-morfolin-4-io (KX2-391, sal diHCl).

40

A una suspensión agitada de KX2-391 (base libre, 60,00 g) en EtOH absoluto (600 mL) se adicionaron 170 mL de HCl 2.5 M (en etanol), se adicionaron 25 mL de EtOH para lavar los lados del matraz. La solución homogénea resultante se agitó a temperatura ambiente (20 minutos) y después se evaporó hasta casi sequedad (para formar espuma). Después de perseguir con EtOH (2 x 150 mL), el residuo se recogió nuevamente en EtOH (150 mL) y después se continuó con la adición lenta de heptano hasta que la mezcla pareció saturada (se requirieron 33 mL para que permanezca la turbidez). Después de asentarse durante toda la noche, se formaron dos capas. Después de adicionar heptano adicional (250 mL) aún no pudo inducirse la cristalización y por lo tanto la mezcla de reacción se concentró a un volumen de ~200 mL en cuyo momento la mezcla era homogénea. Esta solución espesa homogénea se adicionó gota a gota a EtOAc (mecánico) agitado muy rápidamente (2 L). Después de que se completó la adición, se adicionó un enjuague de EtOH de 25 mL del matraz original y del embudo de adición a la mezcla rápidamente agitada. La agitación rápida continuó durante otra ~1 h y después la mezcla se filtró y el sólido (parcialmente gomoso) se lavó con EtOAc (300 mL) y después con heptano. Tan pronto como comenzó el lavado con heptano, el sólido se volvió mucho más gomoso. El embudo de Buchner poroso y su contenido se cubrieron (toalla de papel/banda de goma) y colocaron inmediatamente en el horno de vacío. Después de una noche a vacío a ~45 °C, el vacío se liberó bajo nitrógeno y el embudo Buchner que contenía el producto (sólido espumoso) se colocó inmediatamente en una bolsa con cierre de cremallera y después, bajo nitrógeno (bolsa de guantes), se transfirió a una botella y el sólido espumoso se disgregó (espátula) a un polvo. Una segunda noche bajo alto vacío (~45 °C) resultó en solo 1,3 g de pérdida de peso adicional. El peso constante se alcanzó esencialmente con la tercera noche de alto vacío (~45 °C) donde solo se perdieron 0,2 g de peso. El peso final del material fue de 68,05 g (rendimiento del 97 %), que contiene 0,29 eq (4,8 % p/p) de EtOAc, 0,035 eq (0,3% p/p) de EtOH y 0,03 eq (0,6 % p/p) de heptano. La pureza fue del 99,6 %.

45

50

55

60

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3,1-3,3 (m, 2 H), 3,45-3,65 (m, 4 H), 3,8-4,0 (m, 4 H), 4,11 (s, 2 H), 4,32 (d, 2 H), 4,57 (t, 2 H), 7,19 (d, 2 H), 7,2-7,4 (m, 5 H), 7,88 (d, 2 H), 7,93 (d, 1 H), 8,68 (dd, 1 H), 8,99 (br t, 1 H), 9,10 (ajuste d, 1 H), 11,8 (br s, 1 H). MS (a partir de LC/MS): m/z 432.5.

65 Análisis elemental (para $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 2 \text{HCl} \cdot 0,035 \text{EtOH} \cdot 0,29 \text{EtOAc} \cdot 0,03 \text{heptano} \cdot 0,8 \text{H}_2\text{O}$):

- a. Calculado (%): C, 60,03; H, 6,54; N, 7,65; Cl, 12,91
 b. Observado (%): C, 59,85/59,97; H, 6,54/6,47; N, 7,67/7,67; Cl, 13,10/13,24

5 FW calculado: 534.63 (no tiene en cuenta el 0,8 H₂O que probablemente surgió durante el manejo de este polvo muy higroscópico, ya que ¹H NMR no muestra evidencia para H₂O).

Se midió el nivel de cloruro de etilo en este material y se encontró que era 98 ppm. La muestra se analizó, además, y se encontró que contenía 5800 ppm de heptano.

10 El análisis de otra porción de esta muestra arrojó los siguientes resultados: 99,6 % AUC, 1640 ppm de etanol, 41 480 ppm de acetato de etilo, 5600 ppm de heptano, no se detectó anisol, y 120 ppm de cloruro de etilo.

15 Se desarrolló, además, un procedimiento para recrystalizar la sal mediante el uso de la sal seca anterior. Este procedimiento funcionaría perfectamente con la sal cruda altamente pura (que contiene EtOH residual) obtenida a partir de la concentración de la mezcla de reacción formadora de sal de HCl:

20 La sal (575 mg) se disolvió en el doble de la masa de EtOH absoluto (1,157 g) y después se calentó bajo nitrógeno. A esta solución caliente (agitada) se adicionaron 1,6 g de EtOH al 25 % (en EtOAc) seguido de la adición de EtOAc (0,25 mL) dando como resultado una turbidez que permaneció. La solución caliente turbia se dejó enfriar a temperatura ambiente durante cuyo tiempo se produjo la cristalización. Después de que la cristalización se completó (2 h), el sólido cristalino se filtró, se lavó con EtOAc anhidro (~40 mL) y se secó a vacío para obtener 424 mg de la sal de dihidrocloruro de KX2-391 como un sólido circulante (perlas diminutas, 99,8 % AUC) que contiene solo 0,05 eq (0,45 % p/p) de EtOH y 0,015 eq (0,26 % p/p) de EtOAc. Se obtuvo una recuperación ligeramente mejor (460 mg de 586 mg) mediante el uso de isopropanol/EtOAc pero el nivel de atrapamiento de solventes fue mayor.

25 Ejemplo 3: Síntesis a gran escala de KX2-391 di-HCl

30 Los reactivos y solventes se usaron tal como se recibió de los proveedores comerciales. El progreso de las reacciones se controló mediante HPLC, GC/MS, o ¹H NMR. La cromatografía de capa fina (TLC) se realizó mediante el uso de placas de gel de sílice Analtech y se visualizó mediante luz UV (254 nm). Se realizó una cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en un instrumento de la serie Agilent 1100. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protones y carbono se obtuvieron mediante el uso de un Bruker AV 300 a 300 MHz para protones y 75 MHz para carbono. El pico de solvente se usó como el pico de referencia para los espectros de protones y carbono.

35 Preparación de 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina (2)

40 Un reactor con camisa de 50 L equipado con un condensador de reflujo y sonda de temperatura se cargó con 4-(3-cloropropil)morfolina (2,44 kg, 0,54 mol), 4-bromofenol (2,27 kg, 0,54 mol, 1,0 equivalentes), carbonato de potasio en polvo (6,331 kg, 1,88 mol, 3,50 equivalentes) y DMF (12,2 L) y se agitó. La mezcla de reacción se calentó después a 60-65 °C y se agitó durante toda la noche. Después de 17,5 h, la mezcla de reacción se enfrió a 20-25 °C. La mezcla de reacción se cargó en un reactor diferente equipado con una válvula de fondo para el tratamiento. Mientras se mantenía una temperatura entre 20-30 °C, se cargó agua DI (48,7 L) en el reactor. Las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo con MTBE (3 x 24,4 L). Para los compuestos orgánicos combinados, se adicionaron agua DI (18,3 L) y después hidróxido sódico 6 M (18,2 L). La mezcla se agitó durante 2-5 minutos y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (24,4 L) y salmuera (24,4 L), se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para obtener 3370 g de un aceite amarillo (89 % de rendimiento en bruto, 99,4 % AUC mediante HPLC).

Preparación de ácido 6-fluoropiridin-3-ilborónico (4)

50 Un reactor de 72 L equipado con un condensador de reflujo y una sonda de temperatura. Al reactor se cargó 5-bromo-2-fluoropiridina (1,17 L, 0,568 mol), tolueno (18,2 L) y borato de triisopropilo (3,13 L, 0,68 mol, 1,2 equivalentes) y se agitó. Se adicionó tetrahidrofurano (4,4 L) al reactor y la mezcla de reacción se enfrió a entre -35 a -50 °C. Mientras mantiene una temperatura entre -35 y -45 °C, se adicionó cuidadosamente n-butil litio (solución 2,5 M de hexanos, 5,44 L, 0,68 mol, 1,2 equivalentes) al reactor. Después de 5 h, la reacción se consideró completa y la mezcla de reacción se calentó a entre -15 y -20 °C. A la reacción se adicionó HCl 2M (11,80 L) al reactor mientras se mantenía una temperatura entre -15 °C y 0 °C. La mezcla de reacción se agitó de 18 a 23 °C durante (16 h) y las fases se separaron. Los compuestos orgánicos se extrajeron después con hidróxido de sodio 6 M (6,0 L). Las fases acuosas ácidas anébicas se mezclaron en el reactor y se adicionó HCl 6 M (2,5 L) hasta que se alcanzó un pH de 7,5. Después se adicionó cloruro sódico (6,0 kg) a la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo después con THF (3 x 20 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron para obtener 1300 g de un sólido de color tostado (81 % de rendimiento en bruto).

Preparación de 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5)

65 Un reactor de 72 L equipado con condensador de reflujo, tubo de burbujeo, burbujeador y sonda de temperatura se cargó con ácido 6-fluoropiridin-3-ilérico (2,84 kg, 1,24 equivalentes), 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina (4,27 kg, 1,0 equivalentes), y DME (27 L). Se inició la agitación y después se cargó carbonato de sodio (4,74 kg, 3,0 equivalentes)

como una solución en agua DI (17,1 L) a la mezcla de reacción. Se burbujeó argón a través de la mezcla de reacción durante 50 minutos. Bajo una atmósfera de argón, se adicionó tetrakis(trifenilfosfina)paladio (750 g, 0,04 equivalentes) a la mezcla de reacción como una suspensión en DME (1,0 L). La mezcla de reacción se calentó a 75 - 85 °C y se agitó durante toda la noche (17 h). La mezcla de reacción se enfrió a entre 18 y 22 °C. Se cargó agua DI (26,681 kg) y MTBE (26,681 L) al reactor y se agitó durante 5 minutos. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con MTBE (2 x 26,7 L). Los compuestos orgánicos combinados se extrajeron con HCl 2 M (1 x 15,0 L, 3 x 21,8 L). La fase acuosa se cargó de nuevo al reactor y se adicionó acetato de etilo (26,7 L). El pH se ajustó a 6,2 mediante el uso de hidróxido de sodio 6 M (26,7 L) mientras se mantenía una temperatura entre 15 - 25 °C. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 26,7 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron para obtener 4555 g de un residuo (101 % de rendimiento crudo, 67,1 % AUC mediante HPLC).

Purificación de 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina (5)

El producto crudo (575 g) se purificó mediante cromatografía en gel de sílice y se eluyó con metanol/acetato de etilo/heptano (30 % de acetato de etilo/heptano, 50 % de acetato de etilo/heptano, 75 % de acetato de etilo/heptano, 100 % de acetato de etilo y 5 % de metanol/acetato de etilo). La concentración de las fracciones puras por TLC (10 % de metanol/diclorometano, $R_f=0,3$) proporcionó 420 g de un sólido marrón claro (73 % de recuperación, > 99,9 % AUC mediante HPLC).

Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo (6)

Se cargó una solución de NaHMDS 1 M (2,0 L, 5,0 equivalentes) en THF a un matraz de 5 L y se enfrió entre -20 y -15 °C. Mientras se mantenía una temperatura por debajo de -10 °C, se cargó fluoruro (119,7 g, 1,0 equivalentes) en THF (500 mL) al matraz durante 20 minutos. Se adicionó acetonitrilo (82,5 mL, 4,0 equiv.) en THF (170 mL) al matraz durante 20 minutos, mientras se mantenía una temperatura por debajo de -10 °C. La mezcla de reacción se agitó después durante 1 h. A la reacción se adicionó salmuera (1,5 L, 12,6 vol.) a un ritmo tal como para mantener una temperatura por debajo de 10 °C. La solución después se calentó a temperatura ambiente y las capas se dejaron separar. La mezcla se filtró sobre Celita y se lavó con THF (1 x 200 mL, 1 x 100 mL). La fase acuosa se extrajo con tolueno (750 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron, se lavaron con tolueno (2 x 250 mL) y se concentraron a sequedad. Se adicionó tolueno (1 L) y la solución se concentró a sequedad nuevamente para obtener 169,8 g de un aceite. Se adicionó MTBE (1190 mL, 7 vol.) al aceite a 50 °C y se agitó durante 15 minutos. Se adicionó heptano (850 mL, 5 vol.) durante diez minutos a 50 °C. La mezcla se enfrió después a temperatura ambiente durante 1,5 h y se agitó durante 2 h. La suspensión se filtró, se lavó con 1:4 de MBTE/heptano (2 x 100 mL) y se secó en un horno durante toda la noche a 45 °C para obtener 102,3 g de un sólido blanquecino (80 % de rendimiento, 98,8 % AUC mediante HPLC).

Preparación de metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato (7)

Nitrilo 6 (101 g) y metanol (1,01 L, 10 vol.) se cargaron en un matraz de 3 L equipado con barra de agitación y termopar. Se adicionó H₂SO₄ (175 mL, 10,0 equivalentes) concentrado gota a gota a la solución durante 15 minutos mientras se mantenía una temperatura por debajo de 60 °C. Seguido del 30 % de ácido sulfúrico fumante (124 mL) se adicionó gota a gota a la solución mientras se mantenía una temperatura por debajo de 60 °C. La solución después se calentó a reflujo con una manta calefactora y se agitó durante toda la noche. Cuando la reacción se consideró completa, se enfrió a 20 °C. En un segundo matraz (22 L), se cargaron bicarbonato sódico saturado (10,7 L) y diclorometano (1,1 L) y se enfriaron a 15 °C. Mientras se mantiene una temperatura inferior a 20 °C, la mezcla de reacción se adicionó a la mezcla de bicarbonato de sodio/diclorometano. La inactivación se agitó durante 15 minutos y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (1 x 550 mL, 1 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron a sequedad para obtener 105 g de un sólido naranja (94 % de rendimiento crudo, 97,7 % AUC mediante HPLC).

Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391)

Ester 7 (103 g), anisol (513 mL, 5 vol.) y la bencilamina (94 mL, 3,0 equivalentes) se cargaron a un matraz de 3 L equipado con termopar y agitador superior. La mezcla de reacción se calentó después a 142 °C y se agitó durante dos días. La mezcla de reacción se enfrió a 45-50 °C y se agitó durante 2 horas. A la mezcla se adicionó n-heptano (1,5 L) gota a gota durante una hora. La solución se enfrió a temperatura ambiente durante tres horas y después se agitó durante toda la noche. La suspensión espesa resultante se filtró, se lavó con Anisol/n-heptano (200 mL) 4:1 y n-heptano (3 x 100 mL). Secar en el horno durante toda la noche, el producto resultante fue 112,1 g de un sólido de color tostado (90 % de rendimiento, 99,6 % AUC mediante HPLC). El uso de un solo isómero de heptano fue esencial para cuantificar adecuadamente el solvente residual. Consulte la Figura 5 para la ¹H NMR de KX2-391.

Preparación de sal de dihidrocloruro de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391·2HCl)

Se cargó EtOH (1,0 L) en un matraz de 2 L y cloruro de acetilo (62,5 mL, 3,0 equivalentes) se adicionó lentamente al matraz y se agitó durante 40 minutos. La solución resultante se adicionó a KX2-391 (100 g) durante 30 minutos mientras se mantenía una temperatura de 30 °C. La solución se concentró hasta una masa de 270 g. La solución concentrada se

adicionó a acetato de etilo (2 L) durante 20 minutos con agitación rápida. La mezcla se agitó durante toda la noche y después se filtró bajo nitrógeno para obtener dos productos sólidos distintos, sólidos de color tostado (73,5 g) y sólidos más oscuros (42,2 g). Los sólidos se mezclaron en seco para obtener un rendimiento combinado del 99 %. El análisis mediante HPLC indicó una pureza del 99,0 % (AUC).

El análisis indicó que el etanol estaba presente a 2530 ppm, el acetato de etilo a 48 110 ppm, el cloruro de etilo a 170 ppm, y no se detectaron heptano y anisol. El contenido de paladio se ensayó tres veces y se midió para que fuera de 29 ppm, 2 ppm y menos de 1 ppm.

Estudio de cristalización de KX2-391·2HCl

Los experimentos mostrados en la Tabla 1 se realizaron para explorar diferentes condiciones de cristalización y precipitación de KX2-391·2HCl.

Tabla 1: Estudio de cristalización de KX2-391 2HCl

Condiciones de formación de sal					Condiciones de cristalización					Comentarios
Expt	Amida (g)	Lote	Solvente	Ácido	Solvente (vol)	Lote	EtOAc (vol)	Temperatura (C)	Sólidos buenos (y/n)	
02BP097 A	0,1	02BP09 0D (blanquecino)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (10)	--	10	60	N	Sólidos gomosos/suspensión formados como EtOAc agregado
02BP097 B	0,1	02BP09 1E (blanco)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (10)	--	--	60	N	Engomado con enfriamiento
02BP097 C	0,1	02BP09 1E (blanco)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (15)	--	6	65	N	Secado con EtOAc primero; producto aceitado con enfriamiento
02BP097 D	0,1	02BP09 1E (blanco)	--	IPA-HCl (5M)	EtOAc/ IPA	--	--	60	N	IPA-HCl añadido a la solución de amida; engomado durante la adición (2 gotas)
02BP097 E	0,3	02BP09 0D (blanquecino)	EtOH	IPA-HCl (5M)	EtOH (3,3)	Acros	6,3	30-60	Y	Se observaron sólidos a 30 ° C después de añadir EtOAc; filtrado lento
02BP097 F	0,3	02BP09 3G (sólido de color tostado)	EtOH	IPA-HCl (5M)	EtOH (3,3)	Acros	6,6	60	Y	Sólidos observados durante el enfriamiento después de la adición de EtOAc; filtrado lento
02BP097 G	0,3	02BP09 3G (sólido de color tostado)	PrOH	IPA-HCl (5M)	PrOH (3,3)	--	1,7	60	Y	Sólidos observados durante el enfriamiento después de la adición de EtOAc; filtrado lento
02BP097 H	0,3	02BP09 3G (sólido de color tostado)	BuOH	IPA-HCl (5M)	BuOH (5)	--	1,2	60	Y	Los sólidos observados durante el enfriamiento después de la adición de EtOAc; filtrado muy lento
02BP098 A,B,C	1,0	02BP09 3G (sólido de color tostado)	EtOH	IPA-HCl (5M)	EtOH (3,3)	Ald	4-6	60	N	Nubosidad observada antes de lo esperado; aceitado
02BP098 D	1,0	02BP09 3G (sólido de color tostado)	EtOH	EtO H-Cl (2,5 M)	EtOH (3,3)	Ald	4,6	60	N	Aceitado después del enfriamiento
02BP098 E	0,3	02BP09 0D (blanquecino)	EtOH	EtO HCl (2,5)	EtOH (3,3)	Ald	5,3	60	N	Aceitado a partir de la adición de EtOAc

02BP098 F	0,3	02BP09 (blanco)	EtOH	IPA- HCl (5M)	EtOH (3,3)	Acros	6	60	N	Aceitado después de la adición de EtOAc
02BP098 G	0,3	02BP09 1E (blanco)	PrOH	IPA- HCl (5M)	PrOH (3,3)	--	4	60	N	Aceitado con enfriamiento

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

La precipitación se logró mediante una adición inversa de KX2-3912HCl en una solución concentrada de etanol a un gran volumen de acetato de etilo con agitación rápida. Este procedimiento de precipitación se implementó para el lote de demostración que dio como resultado la formación de dos tipos de sólidos distintos. Los dos tipos de sólidos distintos se separaron físicamente y se filtraron por separado. Se filtró primero un sólido de color tostado menos denso (lote 02BP111E, 74 g, 99,1 % AUC mediante HPLC) seguido de un sólido más oscuro más denso (lote 02BP111F, 43 g, 99,1 % AUC mediante HPLC). Después de secar en un horno de vacío y antes de mezclar los dos sólidos, se retuvo una muestra de cada uno para su análisis. Los datos de interés son la Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC, Figuras 1 y 2) y la Difracción de Rayos X en Polvo (XRPD, Figuras 3 y 4). Los datos de HPLC para las dos muestras fueron comparables, mientras que la DSC y XRPD fueron diferentes.

Ambas preparaciones de HPLC tenían una pureza superior al 99,0 % (en % de área), la muestra de lote 02BP111E mostró un solo evento endotérmico a aproximadamente 198 °C mientras que la muestra de lote 02BP111F mostró dos eventos endotérmicos a 117 °C y 189 °C. Los datos de XRPD para las dos muestras también fueron diferentes, la muestra del lote 02BP111E pareció cristalina, mientras que la muestra del lote 02BP111F pareció amorfa. Los datos de HPLC, los datos de XRPD y los datos de DSC admiten que las dos muestras son formas diferentes del mismo material.

Los dos lotes de KX2-391·2HCl (lote 02BP111E y 02BP111F) se mezclaron en seco y dieron como resultado un nuevo lote de KX2-391·2HCl (lote 02BP111G). El KX2-391·2HCl (lote 02BP111G) contenía 170 ppm de cloruro de etilo.

Ejemplo 4: Preparación de mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391·MSA).

Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo (6)

Para redondear el reactor inferior 1 se cargó bis(trimetildisilil)amida sódica (1,0 M en THF, 23,2 L) y la solución se enfrió a ≤ -10 °C durante 52 minutos. A una bombona de vidrio, bajo nitrógeno, se le cargó el compuesto 5 (1400 g, 1 en peso) y THF (7,0 L, anhidro, 5 vol)). El lote se agitó con un agitador impulsado por aire bajo nitrógeno. El lote no era completamente soluble y era una solución nebulosa. La solución del compuesto 5 se adicionó al reactor 1 durante 41 minutos mediante un embudo de adición de 5 L. Se preparó una solución de acetonitrilo (965 mL, anhidro, 0,69 vol) en THF (2,0 L, anhidro, 1,43 vol) y se adicionó al reactor 1 durante 48 minutos a ≤ -10 °C mediante el mismo embudo de adición (una pequeña cantidad de un sólido amarillo estaba presente en la pared del reactor). Después de envejecer durante 45 minutos a ≤ -10 °C se tomaron muestras del lote para el análisis y el compuesto 5 fue del 0,03 % por conversión (especificación $\leq 1,5$ % por conversión). Una hora y 24 minutos después de la toma de muestras, se adicionó salmuera (17,6 L, 12,6 vol) al reactor 1 durante 52 minutos y se obtuvo un lote con poca agitación (se asemejó a una emulsión). Se preparó una almohadilla de tierra de diatomeas en un embudo de polipropileno de 24 pulgadas (1026 g de Celita 545 suspendidas en 3,3 L de agua con el filtrado descartado). El lote se filtró bajo succión a través de la almohadilla y el reactor se enjuagó con THF (1,75 L, 1,25 vol) y el enjuague se transfirió a la torta. La torta se enjuagó con una segunda porción de THF (1,75 L, 1,25 vol) y el tiempo de filtración total fue de 1 hora y 17 minutos. El filtrado se transfirió al reactor 2 y las fases se separaron y se mantuvieron durante toda la noche (el lote se mantuvo en el reactor bajo nitrógeno). La fase orgánica (aproximadamente 34,5 L) se drenó y la fase acuosa se extrajo con tolueno (8,1 L, 5,8 vol), mediante la agitación durante 16 minutos y la sedimentación durante 12 minutos. Es posible omitir la extracción de tolueno y simplemente adicionar tolueno directamente a la fase orgánica después de la separación. La fase acuosa (aproximadamente 19 L) se retiró y las fases orgánicas se combinaron y se secaron en el reactor 2 con sulfato de magnesio (1400 g, 1 peso, anhidro) durante 55 minutos. El lote se filtró a través de un embudo de polipropileno de 24 pulgadas equipado con un filtro en línea en una bombona de vidrio. El lote se cubrió con argón y se almacenó en la cámara frigorífica (2-8 °C) a la espera de la concentración. Al día siguiente, el lote se concentró para obtener un residuo y se enjuagó con tolueno (11,8 L, 8,4 vol), que a su vez se concentró (baño de agua a 50 ± 5 °C). En el punto de la adición de tolueno, el lote era una suspensión de color naranja y se mantuvo así después de la concentración. El tiempo de concentración total fue de 5 horas y 3 minutos.

Al reactor 3 se le cargó MTBE (13,9 L, 9,9 vol, ACS) que después se calentó a 45 ± 5 °C. Se drenó el MTBE y se usaron aproximadamente 2 L de MTBE para resuspender el lote del bulbo en el reactor 3. El MTBE restante se adicionó al reactor 3 y se mantuvo el lote a 45 ± 5 °C y el lote se envejeció durante 33 minutos en este intervalo de temperatura. Se adicionó después *n*-heptano (10 L, 7.1 vol, 99 %) al reactor 3 durante 39 minutos y se mantuvo el lote a 45 ± 5 °C. La fuente de calor se desconectó, el lote se enfrió a 25 ± 5 °C durante 4 horas y 5 minutos y envejeció en ese intervalo de temperatura durante 27 horas y 4 minutos. El lote se filtró después por succión a través de un embudo de polipropileno de 24 pulgadas (paño de PTFE), se cubrió y se secó bajo nitrógeno. El tiempo de filtración total fue de 20 minutos. El lote naranja (peso neto en húmedo 1322 g) se secó a peso constante durante 48 horas y 3 minutos en un horno de vacío ajustado a 45 ± 5

°C. El lote se transfirió a dos frascos de vidrio ámbar de 80 oz (cierre revestido de teflón) y se cubrió con argón (1217 g de 6, 81 % de la teoría).

Preparación de metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato (7)

5

A un reactor de 22 L se le cargó el compuesto 6 (900 g, 2,78 mol) y metanol (9,0 L, 10 vol, anhidro). Se adicionó ácido sulfúrico (1115 mL, fumante) a la suspensión durante 2 horas y 11 minutos para obtener una solución oscura. La temperatura máxima fue de 65,5 °C (objetivo <65 °C). Se adicionó ácido sulfúrico (1565 mL, 1,74 vol, concentrado) al lote durante 1 hora y 49 minutos y después el lote se calentó a reflujo visible (74 °C) durante 18 minutos. El lote se mantuvo a esa temperatura durante 16 horas y 57 minutos. Se observó que el reflujo suave visible estaba ausente, por lo que el lote se calentó de nuevo a reflujo a 79-80 °C durante 2 horas y 15 minutos. El lote se mantuvo a esa temperatura (80 ± 5 °C) durante 10 horas y 57 minutos y después se desconectó la fuente de calor; se realizó una carga adicional de metanol (0,75 L, 0,8 vol, anhidro) después de 26 horas y 4 minutos para reponer el volumen de solvente perdido. Se estimó que se perdieron 2,5-3,3 L de solvente por evaporación. El análisis mediante HPLC después de 42 horas y 31 minutos a reflujo indicó que el nivel del compuesto 6 era 0,6 % por conversión (especificación ≤ 1,0 %). A cada uno de los reactores 1 y 2 se le cargó cloruro de metileno (4,8 L, 5,3 vol) y solución de hidrogenocarbonato sódico (48 L, 53,3 vol, saturado). Las soluciones de hidrogenocarbonato de sodio se almacenaron durante toda la noche a 2-8 °C y se eliminaron a la mañana siguiente. La mitad del lote del reactor de 22 L se adicionó en porciones a cada reactor durante 47 y 44 minutos respectivamente (la temperatura del lote fue de 12-13 y 14-15 °C, respectivamente). El enfriamiento se acompañó por la evolución del dióxido de carbono (vigoroso en el vórtice). Los lotes de cada reactor se transfirieron a continuación a un reactor de 200 L y el lote se agitó durante 16 minutos, después se depositaron durante 25 minutos y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo sucesivamente con dos porciones de cloruro de metileno (5 L, 5,6 vol y 2,7 L, 3 vol); cada extracción se llevó a cabo durante 15 minutos mediante la agitación con sedimentación durante 6 y 9 minutos, respectivamente. La fase orgánica combinada se transfirió al reactor 3 y se secó con sulfato de magnesio (900 g, 1 peso, anhidro) durante 35 minutos. El lote se filtró bajo succión a través de un embudo de polipropileno de 24 pulgadas equipado con paño Sharkskin y equipado con un filtro en línea (10 micras, Pall P/N 12077). El filtrado se concentró en un evaporador rotatorio durante un total de 2 horas y 18 minutos a 40 ± 5 °C (temperatura del baño de agua). Después de 54 minutos, el lote solidificó y formó las bolas. Estas se dividieron y la concentración continuó. El lote (una mezcla de sólidos finos y trozos quebradizos) se molió después y se devolvió al bulbo y se continuó la concentración. El lote se transfirió a un frasco de ámbar de 80 onzas con una tapa revestida de teflón y se cubrió con argón para obtener el compuesto 7 (871 g, 88 % de la teoría).

10

15

20

25

30

Preparación de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391)

A un reactor de 22 L se le cargó el compuesto 7 (650 g, 1,82 mol), anisol (3,25 L, 5 vol, anhidro) y bencilamina (600 mL, 0,92 vol, 3 equivalentes). El lote (aproximadamente a 18 °C) se calentó a 142 ± 5 °C durante 1 hora y 44 minutos, la disolución ocurrió a 30 °C. El lote se mantuvo a 142 ± 5 °C durante 69 horas y 30 minutos en cuyo punto el análisis mediante HPLC indicó que el compuesto 7 era 0,9 % por conversión (especificación ≤ 1,7 % por conversión). El lote se enfrió a 45-50 °C durante 5 horas y 12 minutos (para ayudar a enfriar, el flujo de nitrógeno se incrementó una vez que el lote estuvo aproximadamente a 72 °C). En ese intervalo de temperatura, el lote estaba mal agitado y al mezclarlo, la temperatura del lote aumentó a 52 °C. Fue >50 °C durante ≤ 15 minutos. El lote se envejeció durante 2 horas y 2 minutos una vez inicialmente <50 °C, después se adicionó n-heptano (9,75 L, 15 vol, 99 %) al lote durante 1 hora y 56 minutos, y se mantuvo la temperatura del lote a 45-50 °C. El calentamiento se interrumpió después y el lote se enfrió a 25 °C durante 10 horas y 32 minutos y después a aproximadamente 20 °C durante 20 minutos. El tiempo total que el lote se mantuvo ≤ 25 °C fue de 4 horas y 50 minutos (2 horas y 47 minutos a aproximadamente 20 °C). El lote se filtró por succión a través de un embudo de filtro de polipropileno de 24 pulgadas (equipado con un paño de PTFE) y el reactor se enjuagó con anisol/n-heptano (1,3 L, 4: 1) y el enjuague se transfirió a la torta. La torta se lavó después sucesivamente con dos porciones de n-heptano (1,3 L, 0,65 L). El tiempo de filtración total fue de 39 minutos. El lote (peso neto en húmedo 1004 g de KX2-391) se transfirió a tres bandejas de vidrio y se colocó en un horno de vacío ajustado a 50 °C y se secó a peso constante durante 96 horas y 26 minutos.

35

40

45

50

Preparación de mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-N-bencilacetamida (KX2-391·MSA)

KX2-391 (520 g, 1,21 mol) se transfirió al reactor 1 mediante el uso de acetona (41,6 vol, 80 vol, ACS) para facilitar la transferencia. El lote se calentó a 50 ± 5 °C durante 33 minutos, ocurrió la disolución a 30 °C. El lote se clarificó en un segundo reactor a través de una bomba de transferencia equipada con un filtro en línea (Pall P/N 12077, 10 micras) y se recalentó desde 46 °C a 50 ± 5 °C. Se adicionó ácido metanosulfónico (121,4 g, 1,05 equiv, 99 % de pureza extra) al lote amarillo pálido durante 12 minutos y después se interrumpió el calentamiento. Después de catorce minutos, se observaron sólidos blancos, que aumentaron en número para obtener después de 59 minutos una suspensión blanca. El lote estuvo en el intervalo de 25 ± 5 °C después de 7 horas y 51 minutos y envejeció durante otras 19 horas y 21 minutos (10 horas y 30 minutos a ≤ 27 °C). El lote se filtró bajo succión a través de un filtro de polipropileno de 24 pulgadas (pañó de PTFE) y el reactor se enjuagó con acetona (2,0 L, clarificado, ACS) y el enjuague se transfirió a la torta. La torta se cubrió con una cubierta de acero inoxidable y se secó bajo un flujo de nitrógeno. El tiempo de filtración total fue de 21 minutos. El lote (peso neto en húmedo 764 g) se transfirió a tres bandejas de secado de vidrio y se secó en un horno de vacío a peso constante a 25 ± 5 °C durante 21 horas 54 minutos (565 g, 89 % de la teoría). Se retiró una muestra para análisis y el lote

55

60

65

se mantuvo a vacío a 25 ± 5 °C. Después, el lote se transfirió a dos botellas de vidrio ámbar de 80 onzas (cierre de polipropileno revestido de teflón), se cubrió con argón y se almacenó a una temperatura de -10 a -20 °C.

Otras modalidades

5

Aunque la invención se describió junto con la descripción detallada de esta, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas, y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones. Los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse diversos cambios en la forma y en los detalles sin apartarse del alcance de la invención abarcada por las reivindicaciones adjuntas.

10

Reivindicaciones

- 5 1. Una composición que comprende sal de mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida (KX2-391), en donde la sal de mesilato de KX2-391 tiene una pureza superior al 98,0 %, 99,0 %, 99,5 %, 99,6 % o 99,7 % según se determina mediante HPLC.
2. La composición de la reivindicación 1, en donde la composición contiene menos del 2 % de una impureza seleccionada entre cloruro de etilo, etanol, acetato de etilo, heptano, anisol, paladio y combinaciones de estos.
- 10 3. La composición de la reivindicación 1 o 2 comprende, además, un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 4. Un proceso para preparar mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida que comprende el paso de: poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-ilo)-*N*-bencilacetamida.
- 20 5. El proceso de la reivindicación 4 comprende las etapas de:
 - (1) hacer reaccionar 4-(2-cloroetil)morfolina con 4-bromofenol para producir 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina;
 - (2) acoplar 4-(2-(4-bromofenoxi)etil)morfolina con ácido 6-fluoropiridin-3-il-3-borónico para producir 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina;
 - (3) hacer reaccionar 4-(2-(4-(6-fluoropiridin-3-il)fenoxi)etil)morfolina con acetonitrilo para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo;
 - (4) convertir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetonitrilo a metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato;
 - 25 (5) hacer reaccionar metil 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)acetato con bencilamina para producir 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida; y
 - (6) poner en contacto 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida con ácido metanosulfónico para producir mesilato de 2-(5-(4-(2-morfolinoetoxi)fenil)piridin-2-il)-*N*-bencilacetamida.
- 30 6. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado entre trastornos de proliferación celular, trastornos hiperproliferativos, cánceres, precánceres, osteoporosis, trastornos cardiovasculares, disfunción del sistema inmunitario, diabetes tipo II, obesidad, pérdida de audición, derrame, enfermedad oftálmica, aterosclerosis, dolor neuropático, hepatitis B, enfermedad autoinmunitario y rechazo de trasplante.
- 35 7. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el cáncer es cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cerebro, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de colon, cáncer de pulmón o cáncer de próstata.
- 40 8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el cáncer es cáncer de piel melanoma maligno, cáncer de piel no melanoma, tumor hematológico, neoplasia hematológica, leucemia infantil, linfoma, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, linfoma de origen linfocítico, linfoma de origen cutáneo, leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia linfoblástica, leucemia mielocítica aguda, leucemia mielocítica crónica, neoplasia de células plasmáticas, neoplasia linfóidea o un cáncer asociado con el SIDA.
- 45 9. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la enfermedad oftálmica es degeneración macular, retinopatía o edema macular.
- 50 10. La composición para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la enfermedad autoinmunitario es artritis reumatoide, esclerosis múltiple o lupus.
- 55 11. La composición para usar de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-10, formulada para administración oral o tópica.

55

60

65

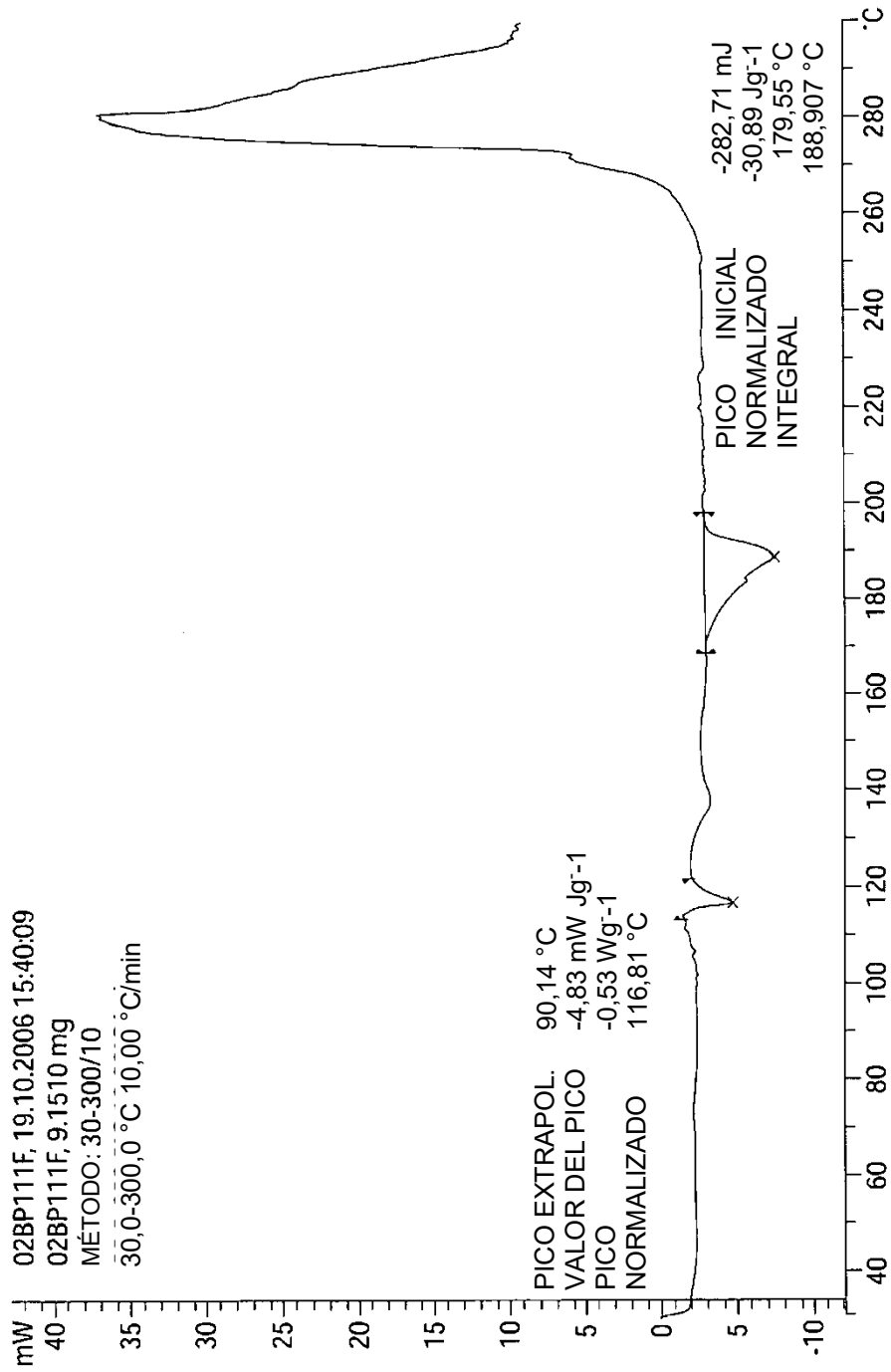


Figura 1

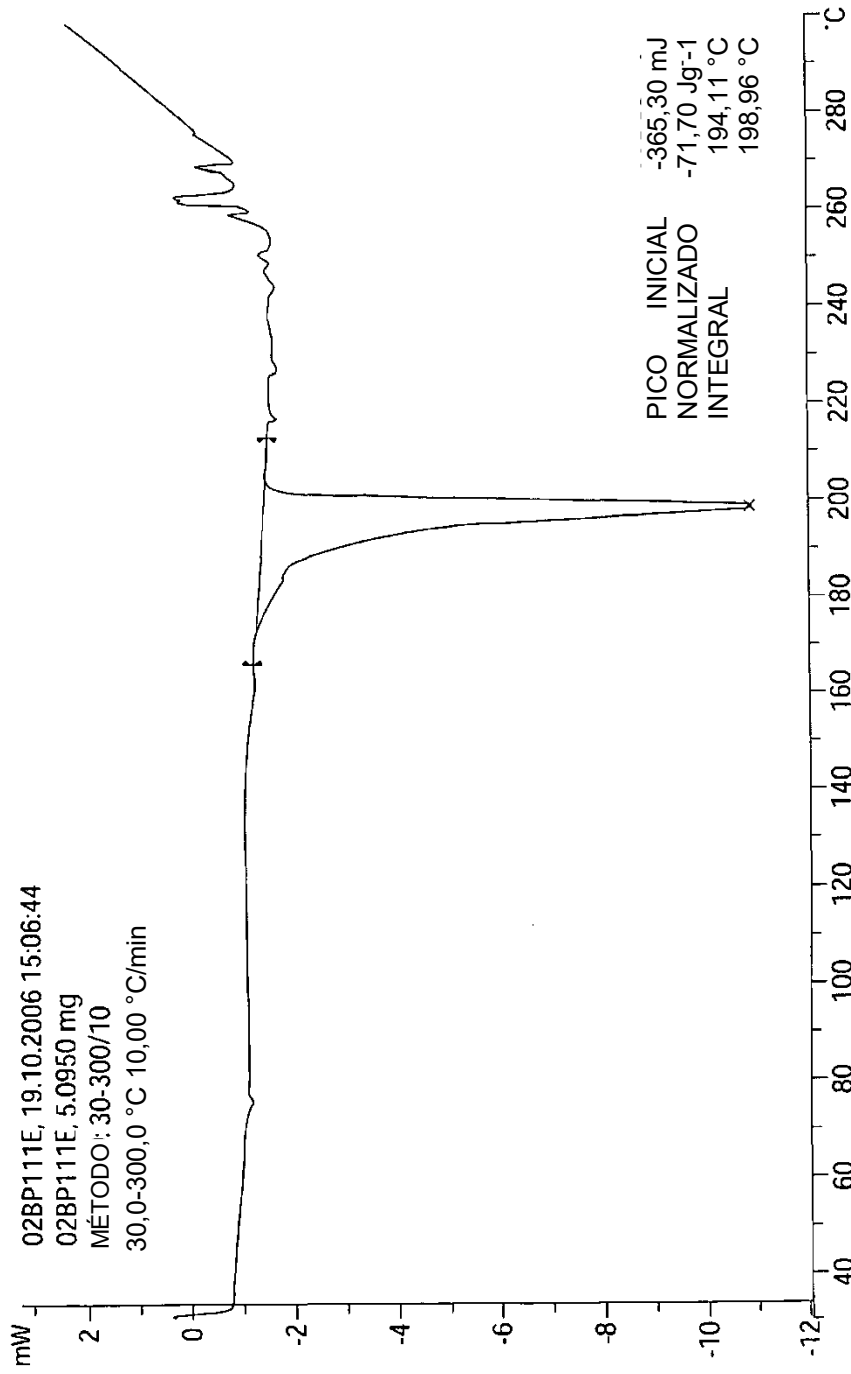


Figura 2

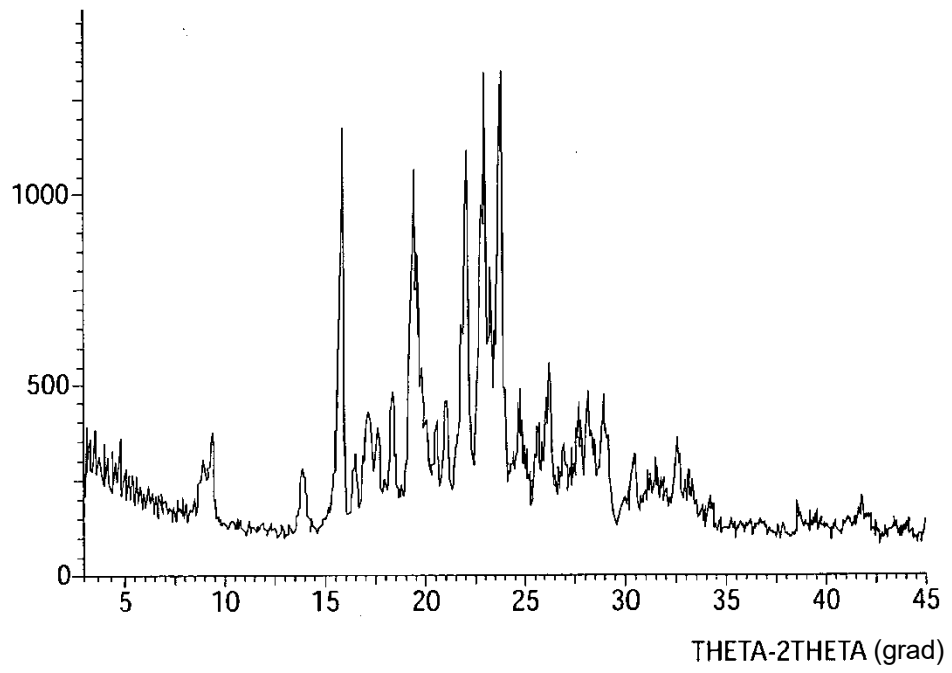


Figura 3

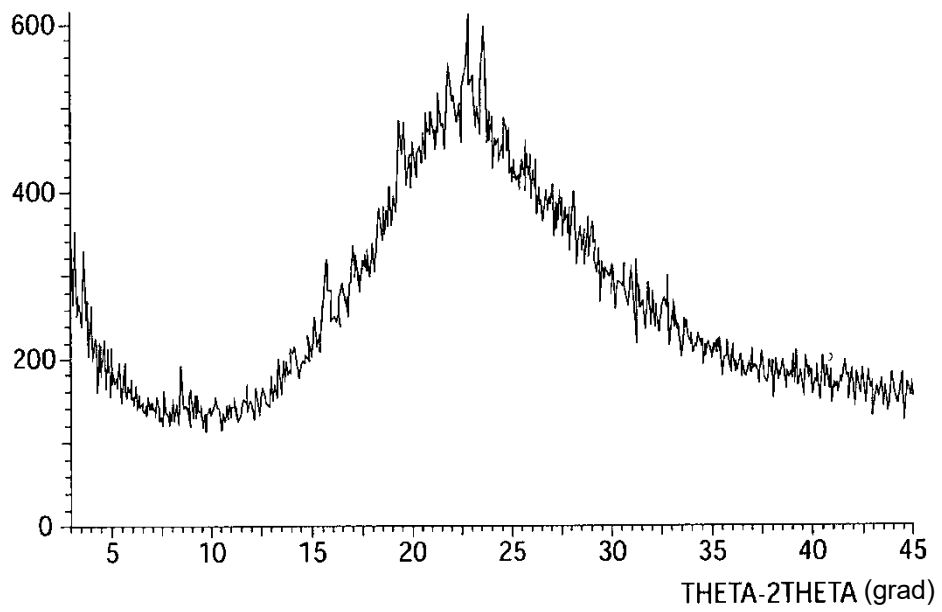


Figura 4

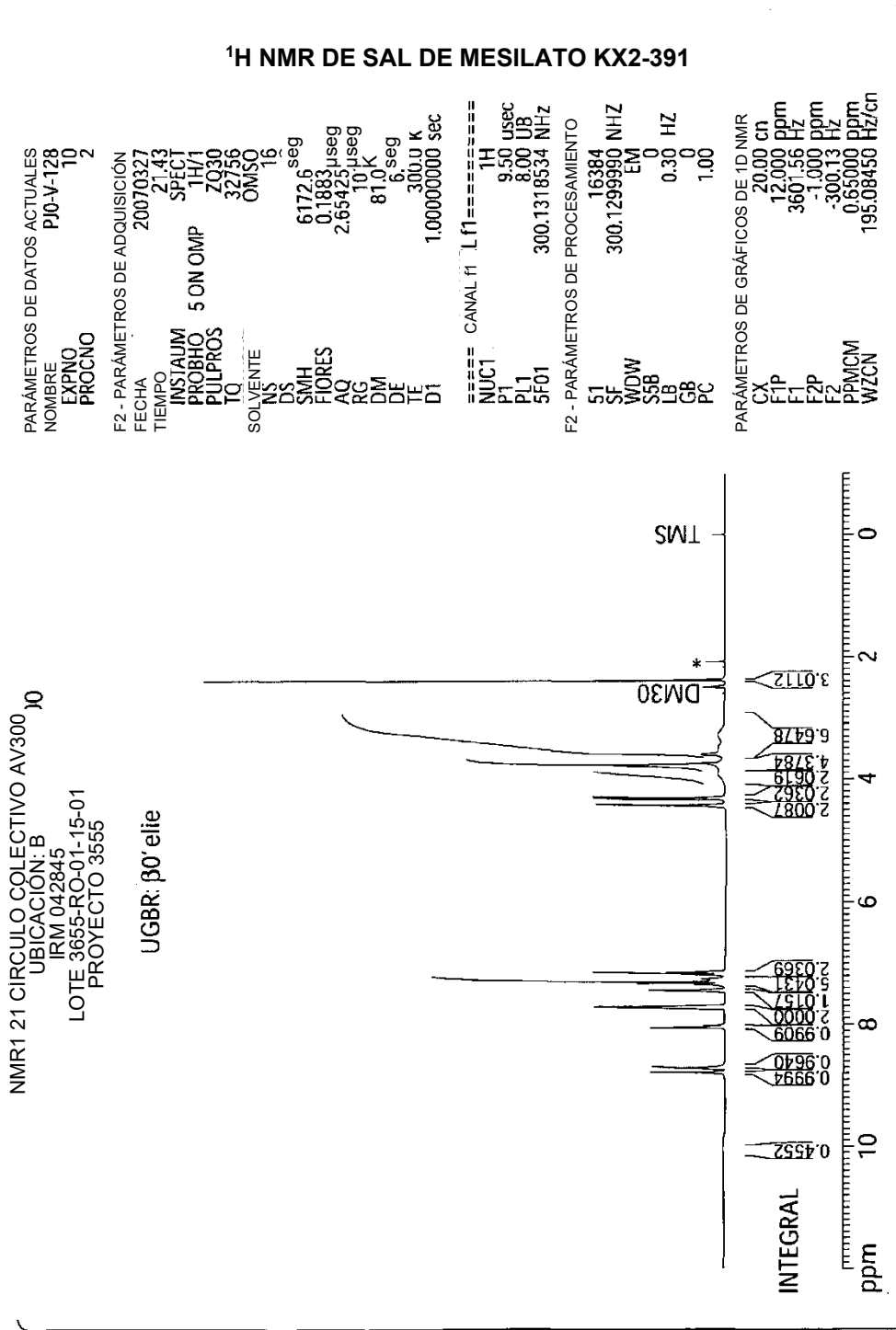


Figura 6