

DERIVADOS DE TIADIAZOLILO COMO INHIBIDORES DE ADN POLIMERASA THETA Y SUS USOS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Atacar las deficiencias en la reparación del ADN se ha convertido en una estrategia probada y eficaz en el tratamiento del cáncer. Sin embargo, los cánceres con deficiencias en la reparación del ADN a menudo se vuelven dependientes de vías de reparación del ADN de reserva, lo que supone un "talón de Aquiles" que se puede atacar para eliminar las células cancerosas, y es la base de la letalidad sintética. La letalidad sintética se ejemplifica con el éxito de los inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) en el tratamiento de los cánceres de mama y ovario deficientes en BRCA (Audeh M. W., et al., Lancet (2010); 376 (9737): 245-51).

Los procesos de reparación de daños en el ADN son fundamentales para el mantenimiento y la estabilidad del genoma, entre los cuales, las rupturas de doble cadena (DSB) se reparan principalmente por la vía de la unión de extremos no homólogos (NHEJ) en la fase G1 del ciclo celular y por recombinación homóloga (HR) en las fases S-G2. La vía alternativa menos abordada de unión de extremos (alt-EJ), también conocida como vía de unión de extremos mediada por microhomología (MMEJ), comúnmente se considera una vía de reparación de DSB "de reserva" cuando NHEJ o HR están comprometidas. Numerosos estudios genéticos han puesto de relieve el papel de la ADN polimerasa theta (Pol θ , codificada por POLQ) en la estimulación de la MMEJ en organismos superiores (Chan S. H., et al., PLoS Genet. (2010); 6: e1001005; Roerink S. F., et al., Genome research. (2014); 24: 954–962; Ceccaldi R., et. al., Nature (2015); 518: 258-62; y Mateos-Gomez P. A., et al., Nature (2015); 518: 254-57).

Pol θ es distinta entre las ADN polimerasas humanas, ya que presenta no solo un dominio ADN polimerasa C-terminal, sino también un dominio helicasa N-terminal separado por un dominio central largo y menos conservado de función desconocida más allá de la unión a Rad51 (Seki et al., 2003, Shima et al 2003; Yousefzadeh y Wood 2013). El dominio ATPasa/helicasa N-terminal pertenece a la clase HELQ de la superfamilia de helicasas SF2. En células con deficiencia de recombinación homóloga (HRD), Pol θ puede llevar a cabo la síntesis de ADN propensa a errores en sitios de daño del ADN a través de la vía alt-EJ. Se ha demostrado que el dominio helicasa de Pol θ provoca la supresión de la vía HR a través de la

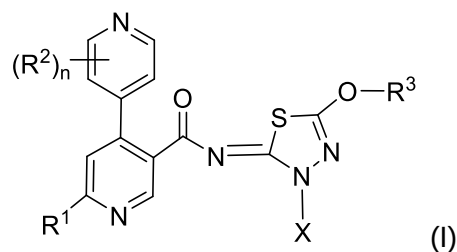
ruptura de la formación del complejo nucleoproteico Rad51 implicado en el inicio de las reacciones de reparación del ADN dependientes de HR después de la radiación ionizante. Esta actividad anti-recombinasa de Polθ promueve la vía alt-EJ. Además, el dominio helicasa de Polθ contribuye al apareamiento de cadenas mediado por microhomología (Chan SH et al., PLoS Genet. (2010); 6: e1001005; y Kawamura K et al., Int. J. Cancer (2004); 109: 9-16). Polθ promueve eficazmente la unión de extremos en la vía alt-EJ mediante el empleo de esta actividad de apareamiento cuando las proyecciones de ADNss contienen >2 pb de microhomología (Kent T., et al., Elife (2016); 5: e13740), y Kent T., et al., Nat. Struct. Mol. Biol. (2015); 22: 230-237). Esta actividad de apareamiento se consigue mediante acciones acopladas de interacción de Rad51 seguidas de desplazamiento mediado por ATPasa de Rad51 de los sitios de daño DSB. Una vez apareado, el dominio polimerasa de Polθ puede extender la cadena de ADN cebador.

La expresión de Polθ está en gran medida ausente en las células normales, pero regulada por aumento en los cánceres de mama, pulmón y ovario (Ceccaldi R., et al., Nature (2015); 518, 258-62). Además, el aumento de la expresión de Polθ se correlaciona con un mal pronóstico en el cáncer de mama (Lemee F et al., Proc Natl Acad Sci USA. (2010); 107: 13390-5). Se ha demostrado que las células cancerosas con deficiencia en HR, NHEJ o ATM son altamente dependientes de la expresión de Polθ (Ceccaldi R., et al., Nature (2015); 518: 258-62, Mateos-Gomez PA et al., Nature (2015); 518: 254-57, y Wyatt D.W., et al., Mol. Cell (2016); 63: 662-73). Por lo tanto, Polθ es un objetivo atractivo para una terapia letal sintética novedosa en cánceres que contienen defectos de reparación del ADN.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Se describen en la presente ciertos derivados de tiadiazolilo que inhiben la actividad de Polθ, en particular inhiben la actividad de Polθ mediante la inhibición de la actividad del dominio helicasa dependiente de ATP de Polθ. Asimismo, se describen composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y métodos de tratamiento y/o prevención de enfermedades tratables mediante la inhibición de Polθ, tal como cáncer, que incluyen los cánceres deficientes en recombinación homóloga (HR).

En un aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde X, R¹, R², R³, y n que tiene los significados proporcionados en la presente a continuación.

En aspectos relacionados, se proporcionan las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir una enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de Polθ en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (o una modalidad del mismo descrito en la presente). En una modalidad, el paciente tiene una necesidad reconocida de dicho tratamiento. En otra modalidad, el compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una composición farmacéutica. En aún otra modalidad, la enfermedad es un cáncer.

En aún otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir a cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (o una modalidad del mismo descrito en la presente). En una modalidad, el paciente tiene una necesidad reconocida de dicho tratamiento. En otra modalidad, el compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una composición farmacéutica.

En otro aspecto, se proporciona un método para inhibir la reparación del ADN por Polθ en una célula cancerosa que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una modalidad, el cáncer es cáncer deficiente en HR.

En aún otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir un cáncer en un paciente, en el que el cáncer se caracteriza mediante una reducción o ausencia de la expresión de los genes BRCA1 y/o BRCA2, la ausencia o mutación de los genes BRCA1 y/o BRCA2, o una función reducida de las proteínas BRCA1 o 2, que comprende administrar al
5 sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente en una composición farmacéutica.

En aún otro aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del
10 mismo para inhibir la reparación de ADN por Pol Θ en una célula. En una modalidad, la célula es la célula deficiente de HR.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad en un paciente, en
15 donde la enfermedad se caracteriza por la sobreexpresión de Pol Θ .

En aún otro aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento y/o prevención de un cáncer de un paciente, en donde el cáncer se caracteriza mediante una reducción o ausencia de expresión del gen BRCA1 y/o
20 BRCA2, la ausencia o mutación de genes BRCA1 y/o BRCA2, o función reducida de BRCA1 o 2 proteínas.

En aún otro aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento y/o prevención de un cáncer deficiente en HR en un
25 paciente.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1 (o una modalidad del mismo descrito en la presente), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento y/o prevención de un cáncer resistente o que ha desarrollado resistencia a la terapia con inhibidores de la poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP)
30 en un paciente. Algunos ejemplos de cánceres resistentes a los inhibidores de PARP incluyen, pero sin limitación, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de páncreas, cáncer gastrointestinal y

cáncer colorrectal.

En aspectos relacionados para los métodos, usos y composiciones anteriores, el cáncer depende de la polimerasa theta para la proliferación, ejemplos de los cuales son linfoma, tumor rabdoide, mieloma múltiple, cáncer uterino, cáncer gástrico, cáncer del sistema nervioso periférico, rabdomiosarcoma, cáncer de hueso, cáncer colorrectal, mesotelioma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de fibroblastos, cáncer del sistema nervioso central, cáncer del tracto urinario, cáncer aerodigestivo superior, leucemia, cáncer de riñón, cáncer de piel, cáncer de esófago y cáncer de páncreas (<https://depmap.org/portal/>).

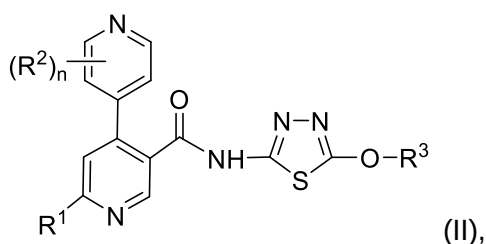
En algunas modalidades, un cáncer deficiente en HR es un cáncer de mama. El cáncer de mama incluye, pero sin limitación, carcinoma lobular in situ (LCIS), carcinoma ductal in situ (DCIS), carcinoma ductal invasivo (IDC), cáncer de mama inflamatorio, enfermedad de Paget del pezón, tumor Phyllodes, angiosarcoma, carcinoma adenoide quístico, carcinoma adenoescamoso de bajo grado, carcinoma medular, carcinoma mucinoso, carcinoma papilar, carcinoma tubular, carcinoma metaplásico, carcinoma micropapilar, carcinoma mixto, u otro cáncer de mama, que incluye, pero sin limitación a triple negativo, HER positivo, receptor de estrógenos positivo, receptor de progesterona positivo, HER y receptor de estrógenos positivo, HER y receptor de progesterona positivo, receptor de estrógenos y progesterona positivo, y HER y receptor de estrógenos y progesterona positivo. En otras modalidades, el cáncer deficiente en HR es un cáncer de ovario. El cáncer de ovario incluye, pero sin limitación, carcinomas ováricos epiteliales (EOC), teratomas de maduración, disgerminomas, tumores de seno endodérmico, tumores de granulosa-theca, tumores de células de Sertoli-Leydig y carcinoma peritoneal primario. En algunas modalidades, el cáncer de ovario incluye cáncer epitelial de ovario, cáncer de las trompas de Falopio y cáncer peritoneal primario.

También se proporciona en la presente la terapia de combinación que comprende los métodos de tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de ADN polimerasa theta ($Pol\Theta$) (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II)) y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de Poli ADP Ribosa Polimerasa (PARP), de este modo tratar el cáncer en el sujeto.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir a cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que lo necesite, que comprende poner en contacto las células cancerosas del paciente con una cantidad efectiva de un

inhibidor de Polθ (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II)) y un inhibidor de la poli ADP ribosa polimerasa (PARP). Un inhibidor del dominio de la polimerasa Polθ, ART4215, ha sido desarrollado por Artios Pharma y se encuentra actualmente en ensayos clínicos de fase 1/2a. Ver "A Study of ART4215 for the Treatment of Advanced or Metastatic Solid Tumors", NCT04991480 en clinicaltrials.gov. También se ha informado de otros inhibidores del dominio polimerasa de Polθ, incluido ART558. Ver Zatreanu D., et al. "Polθ inhibitors elicit BRCA-gene synthetic lethality and target PARP inhibitor resistance," NATURE COMMUNICATIONS, 2021. 12(1):3636.

Un compuesto de la Fórmula (II) tiene la estructura



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y n que tienen el significado proporcionado en la presente a continuación.

En algunos aspectos, se proporcionan en la presente métodos de tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita, los métodos que comprenden administrar al sujeto una combinación que comprende un inhibidor de ADN polimerasa theta (Polθ) (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II)) y un inhibidor de Poli ADP Ribosa polimerasa (PARP), junto con al menos un portador farmacéuticamente aceptable, de este modo se trata cáncer en el sujeto.

Un compuesto de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en la terapia.

Una combinación de un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y un inhibidor de Poli ADP Ribosa polimerasa (PARP), para usar en la terapia.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra un estudio de eficacia del compuesto A en el modelo BRCA1 mutante

TNBC MDA-MB-436. La línea de puntos representa el volumen tumoral inicial medio. Se aplicó un modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular la estadística, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

5 La figura 2 muestra un estudio de eficacia del compuesto A en el modelo MDA-MB-436 mutante BRCA1.

La figura 3 muestra un estudio de eficacia del Compuesto A en el modelo 134-T PDX. Se aplicó un modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular la estadística, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

10 La figura 4 muestra un estudio de eficacia del Compuesto A y el profármaco del Ejemplo 1 en el modelo 134-T PDX. Se aplicó un modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular las estadísticas, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

La figura 5 muestra un estudio de eficacia del profármaco del Ejemplo 1 en el modelo TNBC MDA-MB-436 CDX mutante BRCA1. Se aplicó un modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular la estadística, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

15 La figura 6 muestra un estudio de eficacia que demuestra que el profármaco del Ejemplo 1 puede resensibilizar los tumores PDX 134-T que progresan con Niraparib. Se aplicó un modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular la estadística, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

20 La figura 7 muestra un estudio de eficacia del compuesto A en el modelo CDX con supresión BRCA2 DLD1.

La figura 8 muestra un estudio de eficacia del profármaco del Ejemplo 1 en el modelo de xenoinjerto de línea celular humana MDA-MB-436 con deficiencia de HR. El análisis estadístico se realizó mediante un modelo de efectos mixtos con la prueba de comparaciones múltiples de Sidak.

25 La figura 9 muestra un estudio de eficacia del profármaco del Ejemplo 1 en tumores PDX de ovario 031-T que progresan con Niraparib. Se aplicó el modelo de efectos mixtos con la prueba de Tukey para calcular la estadística, $n=4$, $*p < 0,05$ después del ajuste por multiplicidad.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Antes de describir con más detalle la presente invención, se debe entender que la invención no se limita a las modalidades particulares expuestas en la presente, y también se debe entender que la terminología utilizada en la presente es solo con el propósito de describir modalidades particulares, y no pretende ser limitativa.

5 Las formas singulares "un", "una" y "el/la", como se usa en la presente y en las reivindicaciones anexas, incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se señala además que las reivindicaciones pueden estar redactadas para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base previa para el uso de dicha terminología exclusiva como "únicamente", "solo" y similares
10 en relación con la mención de los elementos de la reivindicación, o el uso de una limitación "negativa".

Cuando se proporciona un rango de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese rango y cualquier otro valor declarado o
15 intermedio en ese rango declarado, está comprendido dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos rangos menores se pueden incluir independientemente en los rangos menores y también se incluyen en la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el rango declarado. Cuando el rango indicado incluye uno o ambos límites, los rangos que excluyen uno o ambos límites incluidos también se incluyen en
20 la invención. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

Cuando sea necesario, cualquier definición de la presente se puede utilizar en combinación con cualquier otra definición para describir un grupo estructural compuesto. Por
25 convención, el elemento final de cualquiera de estas definiciones es el que se une al resto original. Por ejemplo, el grupo compuesto alcoxialquilo significa que un grupo alcoxi está unido a la molécula original a través de un grupo alquilo.

Las publicaciones tratadas en la presente se proporcionan únicamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Además, las fechas de
30 publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales, que pueden necesitar confirmación independiente.

Definiciones:

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones se definen a efectos de la presente solicitud y tienen el siguiente significado:

5 El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarbonado saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir, C₁₋₈ significa de uno a ocho carbonos). El alquilo puede incluir cualquier número de carbonos, tal como C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₁₋₆, C₁₋₇, C₁₋₈, C₁₋₉, C₁₋₁₀, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄₋₅, C₄₋₆ y C₅₋₆. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, 10 n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, y similares.

El término "alquileo" se refiere a un radical alifático saturado lineal o ramificado, que tiene el número de átomos de carbono indicado y que se une al menos otros dos grupos, es decir, un radical hidrocarbonado divalente. Los dos restos unidos al alquileo se pueden unir al mismo átomo o a átomos diferentes del grupo alquileo. Por ejemplo, un alquileo de 15 cadena lineal puede ser el radical bivalente de -(CH₂)_n-, donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Los grupos alquileo representativos incluyen, pero sin limitación, metileno, etileno, propileno, isopropileno, butileno, isobutileno, sec butileno, pentileno, hexileno y similares.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un átomo de oxígeno que conecta el grupo alquilo con el punto de unión: alquilo-O-. Al igual que un grupo alquilo, los 20 grupos alcoxi pueden tener cualquier número adecuado de átomos de carbono, tal como C₁₋₆, y pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alcoxi incluyen, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, iso-propoxi, butoxi, 2-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, ter-butoxi, pentoxi, hexoxi, etc.

El término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene el número indicado de vértices de anillo (por ejemplo, un 25 anillo de 3 a 7 miembros) y que tiene de uno a cinco heteroátomos seleccionados de N, O y S como vértices de anillo. Por ejemplo, "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene de 4 a 6 miembros anulares y de 1 a 3 heteroátomos como vértices del anillo seleccionados independientemente entre N, O y S. Los grupos heterocicloalquilo parcialmente insaturados tienen uno o más enlaces dobles o triples 30 en el anillo, pero los grupos heterocicloalquilo no son aromáticos. Los grupos heterocicloalquilo pueden incluir cualquier número de átomos de anillo, tal como, por ejemplo, 3 a 6, 4 a 6, 5 a 6, 3 a 7, 4 a 7, o 5 a 7 miembros anulares. En los grupos heterocicloalquilo se puede incluir cualquier número adecuado de heteroátomos, tal como 1, 2, 3 o 4, o 1 a 2, 1

a 3, 1 a 4, 2 a 3, 2 a 4 o 3 a 4. Ejemplos no limitantes de grupos heterocicloalquilo incluyen pirrolidina, imidazolidina, pirazolidina, butirolactama, valerolactama, imidazolidinona, hidantoína, dioxolano, ftalimida, piperidina, 1,4-dioxano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolina-S-óxido, tiomorfolina-S,S-óxido, piperazina, pirano, piridona, 3-pirrolina, tiopirano, pirona, tetrahydrofurano, tetrahidrotiofeno, quinuclidina y similares. Otros ejemplos no limitantes de grupos heterocicloalquilo incluyen pirrolidina, imidazolidina, pirazolidina, butirolactama, valerolactama, imidazolidinona, hidantoína, dioxolano, piperidina, 1,4-dioxano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolina-S-óxido, tiomorfolina-S,S-óxido, piperazina, pirano, piridona, 3-pirrolina, tiopirano, pirona, tetrahydrofurano, tetrahidrotiofeno y similares. Un grupo heterocicloalquilo se puede unir al resto de la molécula a través de un carbono anular o un heteroátomo

Los términos "halo" o "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "haloalquilo" se refiere a alquilo, como se definió anteriormente, en el que algunos o todos los átomos de hidrógeno se reemplazan con átomos de halógeno. En cuanto al grupo alquilo, los grupos haloalquilo pueden tener cualquier número adecuado de átomos de carbono, tal como C₁₋₆. Por ejemplo, el término "haloalquilo C₁₋₄" incluye trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo y similares.

El término "haloalcoxi" se refiere a un grupo alcoxi en el que algunos o todos los átomos de hidrógeno están reemplazados con átomos de halógeno. Como para un grupo alquilo, los grupos haloalcoxi pueden tener cualquier número adecuado de átomos de carbono, tal como C₁₋₆, y pueden lineales o ramificados, y están reemplazados con 1, 2, 3 o más halógenos. Cuando todos los hidrógenos se reemplazan con un halógeno, por ejemplo por flúor, los compuestos son per sustituidos, por ejemplo, perfluorados. Los haloalcoxi incluyen, entre otros, trifluorometoxi, 2,2,2, trifluoroetoxi, perfluoroetoxi, etc.

Como se usa en la presente, el término "heteroátomo" incluye oxígeno (O), nitrógeno (N) y azufre (S).

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se entiende que incluye una sal de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, de acuerdo con los sustituyentes particulares que se encuentran en los compuestos descritos en la presente. Cuando los compuestos de la presente invención contienen grupos funcionales relativamente ácidos, se pueden obtener sales de adición de bases mediante el contacto de

la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro, litio, magnesio, manganeso, potasio, sodio, zinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, que incluyen aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas naturales y similares, tal como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibencilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromo, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Cuando los compuestos de la presente invención contienen grupos funcionales relativamente básicos, se pueden obtener sales de adición ácida mediante el contacto de la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogeno carbónico, fosfórico, monohidrógeno fosfórico, dihidrógeno fosfórico, sulfúrico, monohidrógeno sulfúrico, yodhídrico o fosforoso ácidos y similares así como las sales así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencensulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metansulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tal como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónico o galactunórico y similares.(ver, por ejemplo, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen grupos funcionales tanto básicos como ácidos que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición básicas o ácidas.

Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar mediante el contacto de la sal con una base o un ácido y el aislamiento del compuesto original de la manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tal como solubilidad en solventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma original del compuesto a efectos de la presente invención.

Además de las formas salinas, la presente invención proporciona compuestos en forma de profármaco. Los profármacos son compuestos que se someten fácilmente a cambios

químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos originales. Además, los profármacos se pueden convertir en los compuestos originales mediante métodos químicos o bioquímicos en un ambiente ex vivo. El término "resto de profármaco" se refiere al resto químico de un profármaco que se escinde en condiciones fisiológicas para formar el compuesto original activo.

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se consideran que están comprendidas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, se considera que todas las formas físicas estén dentro del alcance de la presente invención.

Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales (p. ej., enantiómeros separados) se incluyen en el alcance de la presente invención. Cuando se muestra una representación estereoquímica, se refiere al compuesto en el que uno de los isómeros está presente y sustancialmente libre del otro isómero. Sustancialmente libre de" otro isómero indica al menos una relación 80/20 de los dos isómeros, con más preferencia 90/10, o 95/5 o más. En algunas modalidades, uno de los isómeros estará presente en una cantidad de al menos 99%.

La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de un compuesto de la Fórmula (I) de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una variación isotópica de un compuesto de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se define como una en la que al menos un átomo se reemplaza con un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica hallada usualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar un compuesto de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro tal como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Ciertas variaciones isotópicas de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal o solvato del mismo, por ejemplo, aquellas en las que se incorpora un isótopo radiactivo como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos y/o sustratos. Los isótopos tritados, es decir, ^3H , y de carbono 14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos tal como deuterio, es decir, ^2H , puede ofrecer ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor

estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la vida media in vivo o una reducción de los requerimientos de dosificación y, por lo tanto, puede ser preferible en algunas circunstancias. En consecuencia, en una modalidad, la presente invención incluye los compuestos de la Tabla 1 (por ejemplo, Ejemplo 1) en los que uno o más átomos de hidrógeno
5 unidos a átomos de carbono se reemplazan con deuterio. Las variaciones isotópicas de un compuesto de la Fórmula (I), o una sal farmacéutica del mismo, se pueden preparar generalmente por procedimientos convencionales, tal como los métodos ilustrativos o las preparaciones descritas en los Ejemplos siguientes, utilizando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

10 Los términos "paciente" o "sujeto" se utilizan indistintamente para referirse a un ser humano o a un animal no humano (por ejemplo, un mamífero). En una modalidad, el paciente es humano.

Los términos "administración", "administrar" y similares, cuando se aplican, por ejemplo, a un sujeto, célula, tejido, órgano o fluido biológico, se refieren al contacto de, por
15 ejemplo, un inhibidor de Polθ, una composición farmacéutica que lo comprende o un agente de diagnóstico con el sujeto, célula, tejido, órgano o fluido biológico. En el contexto de una célula, la administración incluye el contacto (por ejemplo, in vitro o ex vivo) de un reactivo con la célula, así como el contacto de un reactivo con un fluido, cuando el fluido está en contacto con la célula.

20 Los términos "tratar", "que trata", "tratamiento" y similares se refieren a un curso de acción (tal como la administración de un inhibidor de Polθ o una composición farmacéutica que comprende el mismo) iniciado después de diagnosticar, observar o tratar una enfermedad, trastorno o afección, o un síntoma de los mismos, con el fin de eliminar, reducir, suprimir, mitigar o mejorar, temporal o permanentemente, al menos una de las causas
25 subyacentes de una enfermedad, trastorno o afección que afecte a un sujeto, y similares con el fin de eliminar, reducir, suprimir, mitigar o mejorar, temporal o permanentemente, al menos una de las causas subyacentes de una enfermedad, trastorno o afección que aflige a un sujeto, o al menos uno de los síntomas asociados con una enfermedad, trastorno o afección que aflige a un sujeto. Así, el tratamiento incluye la inhibición (por ejemplo, la detención del
30 desarrollo o posterior desarrollo de la enfermedad, trastorno o afección o de los síntomas clínicos asociados a ellos) de una enfermedad activa.

Los términos "necesita tratamiento" o "lo necesita" se refieren a la opinión de un médico u otro cuidador de que un sujeto necesita o se beneficiará de un tratamiento. Esta

opinión se basa en una serie de factores que se encuentran en el ámbito de la experiencia del médico o cuidador. Por ejemplo, al paciente se le ha diagnosticado una enfermedad relacionada con la sobreexpresión de Polθ o un cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR).

5 La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la administración de un agente a un sujeto, ya sea solo o como parte de una composición farmacéutica y ya sea en una dosis única o como parte de una serie de dosis, en una cantidad capaz de tener un efecto positivo detectable sobre cualquier síntoma, aspecto o característica de una enfermedad, trastorno o afección cuando se administra al sujeto. La cantidad terapéuticamente efectiva se
10 puede determinar mediante la medición de los efectos fisiológicos relevantes, y se puede ajustar en relación con el régimen de dosificación y el análisis diagnóstico de la afección del sujeto, y similares. A modo de ejemplo, la medición del nivel sérico de un inhibidor de Polθ (o, por ejemplo, de un metabolito del mismo) en un momento determinado pos-administración puede ser indicativa de si se ha utilizado una cantidad terapéuticamente efectiva.

15 Los términos "inhibidores" y "activadores" se refieren a moléculas inhibidoras o activadoras, respectivamente, por ejemplo, para la activación de, por ejemplo, un ligando, receptor, cofactor, gen, célula, tejido u órgano. Los inhibidores son moléculas que disminuyen, bloquean, impiden, retrasan la activación, inactivan, desensibilizan o regulan por disminución, por ejemplo, un gen, proteína, ligando, receptor o célula. Los activadores son moléculas que
20 aumentan, activan, facilitan, potencian la activación, sensibilizan o regulan por aumento, por ejemplo, un gen, proteína, ligando, receptor o célula. Un inhibidor también se puede definir como una molécula que reduce, bloquea o inactiva una actividad constitutiva.

La "actividad" de una molécula puede describir o referirse a la unión de la molécula a un ligando o a un receptor; a la actividad catalítica; a la capacidad de estimular la expresión
25 génica o la señalización, diferenciación o maduración celular; a la actividad antigénica; a la modulación de las actividades de otras moléculas; y similares.

Por "portador o excipiente farmacéuticamente aceptable" se entiende un portador o excipiente útil para preparar una composición farmacéutica que sea generalmente segura, no tóxica y no indeseable desde el punto de vista biológico o de otro tipo, e incluye un portador
30 o excipiente aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, incluye tanto uno como más de un excipiente de este tipo.

Como se usa en la presente, una línea ondulada, "~~~~", que cruza un enlace simple, doble o triple en cualquier estructura química representada en la presente, representa el punto de unión del enlace simple, doble o triple al resto de la molécula. Además, un enlace que se extiende hasta el centro de un anillo (por ejemplo, un anillo de fenilo) indica la unión a cualquiera de los vértices disponibles del anillo. Un experto en la materia comprenderá que los sustituyentes múltiples que se muestran como unidos a un anillo ocuparán vértices de anillo que proporcionan compuestos estables y que, por lo demás, son estéricamente compatibles.

"Aproximadamente", como se usa en la presente, se considera para calificar los valores numéricos que modifica, lo que indica tal valor como variable dentro de un margen de error. Cuando no se menciona un margen de error particular, tal como una desviación estándar de un valor medio dado en un gráfico o tabla de datos, el término "aproximadamente" se debe entender como el rango que puede abarcar $\pm 10\%$, con preferencia $\pm 5\%$, del valor mencionado y el rango está incluido.

"Enfermedad", como se usa en la presente, se considera generalmente sinónimo y se utiliza indistintamente con los términos "trastorno", "síndrome" y "afección" (como en el caso de las afecciones médicas), en el sentido de que todos reflejan una condición anormal del cuerpo humano o animal o de una de sus partes que altera el funcionamiento normal, se manifiesta típicamente mediante signos y síntomas distintivos y hace que el ser humano o animal tenga una duración o calidad de vida reducida.

"Paciente" generalmente es sinónimo de "sujeto" y, como se usa en la presente, incluye a todos los mamíferos, incluidos los seres humanos. Con preferencia, el paciente es un ser humano.

"Inhibir", "reducir", o cualquier variación de estos términos en relación con Pol θ , incluye cualquier disminución mensurable o inhibición completa para lograr un resultado deseado. Por ejemplo, puede haber una disminución de aproximadamente, o al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, o más, o cualquier rango derivable de ello, reducción de la actividad de Pol θ en comparación con su actividad normal.

El término "recombinación homóloga" se refiere al proceso celular de recombinación genética en el que se intercambian secuencias de nucleótidos entre dos ADN similares o idénticos.

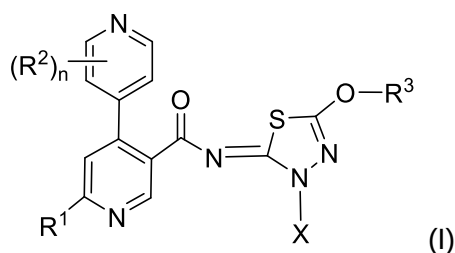
El término "cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR)" se refiere a un cáncer que se caracteriza por la reducción o ausencia de una vía de reparación de HR funcional. La deficiencia de HR se puede deber a la ausencia de uno o más genes asignados a HR o a la presencia de una o más mutaciones en uno o más genes asociados a HR. Algunos ejemplos de genes asociados a HR incluyen BRCA1, BRCA2, RAD54, RAD51B, Ct1P (proteína tipo transportador de colina), PALB2 ('Compañero y localizador de BRCA2'), XRCC2 ('Reparación de rayos X que complementa la reparación defectuosa en células de hámster chino 2'), RECQL4 ("Proteína tipo RecQ 4"), BLM ("Síndrome de Bloom, tipo helicasa RecQ"), WRN ("Síndrome de Werner, uno o más genes asociados a HR"), Nbs 1 ("Nibrina"), y genes que codifican proteínas de la anemia de Fanconi (FA) o genes tipo FA, como por ejemplo FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1 (BRCA2), FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANJ (BRIP1), FANCL, FANCM, FANCN (RALB2), FANCP (SLX4), FANCS (BRCA1), RAD51C, y XPF.

El término "sobreexpresión de Polθ" se refiere al aumento de la expresión o actividad de Polθ en una célula enferma, por ejemplo, una célula cancerosa, en relación con la expresión o actividad de Polθ en una célula normal (por ejemplo, una célula no enferma de la misma clase). La cantidad de Polθ puede ser al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces o más en relación con la expresión de Polθ en una célula normal. Los ejemplos de cánceres Polθ incluyen, pero sin limitación, cáncer de mama, ovario, cuello uterino, pulmón, colorrectal, gástrico, vejiga y próstata.

Como se utiliza en la presente, "inhibidor de la poli ADP ribosa polimerasa (PARP)" se refiere a un agente que inhibe la actividad PARP, incluidas PARP1 y PARP2. Los ejemplos de inhibidores de PARP incluyen, pero sin limitación, niraparib, rucaparib, olaparib, talazoparib y veliparib.

Compuestos:

En algunos aspectos, se proporciona un compuesto de la Fórmula (I):



en donde:

R¹ es H, halo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄;

cada R² es de modo independiente halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄;

5 X es un resto de profármaco;

R³ es alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, o heterocicloalquilo, en donde dicho cicloalquilo C₃₋₆ y dicho heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes R^{3a}, cada uno de los cuales se selecciona de modo independiente de halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, haloalcoxi C₁₋₄, -L³-O-alquilo C₁₋₄, -L³-OH, y oxo;

10 cada L³ se selecciona de modo independiente de a bond y alquilenos C₁₋₄;

cada heterocicloalquilo tiene de 4 a 6 miembros anulares y de 1 a 3 heteroátomos como vértices del anillo seleccionados de modo independiente de N, O, y S; y

n es 0, 1, 2, o 3;

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es -CH(R^c)-O-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH(R^c)-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-CO₂H, -CH(R^c)-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-O-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH(R^c)-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH(R^c)-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-NR^aR^b, o -CH(R^c)-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-heterocicloalquilo, en donde R^a y R^b son cada uno de forma independiente H o alquilo C₁₋₄, y R^c se selecciona de modo
20 independiente de hidrógeno y metilo.

En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es -CH₂O-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-CO₂H, -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-O-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-NR^aR^b, o -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-heterocicloalquilo, en donde R^a y R^b son cada uno de
25 forma independiente H o alquilo C₁₋₄.

En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es -CH₂O-P(O)(OR^a)(OR^b), -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-CO₂H, o -CH₂-O-C(O)-alquilen C₁₋₆-P(O)(OR^a)(OR^b).

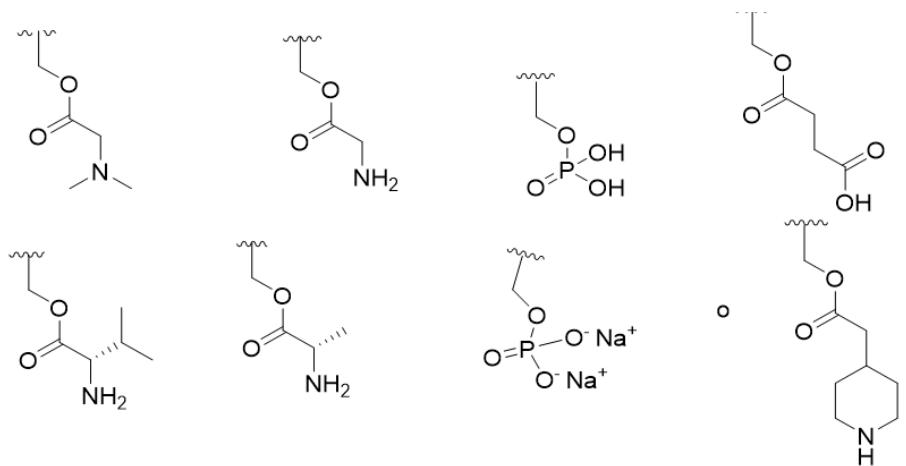
En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es –CH₂O–P(O)(OR^a)(OR^b) o –CH₂–O–C(O)–alquilen C₁₋₆–CO₂H.

En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es –CH₂–O–C(O)–alquilen C₁₋₆–piperidinilo.

5 En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es –CH₂O–P(O)(OR^a)(OR^b).

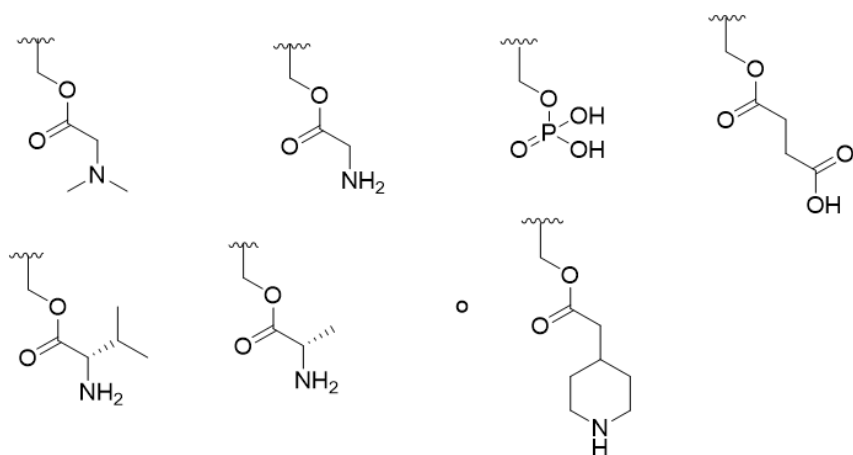
En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es –CH₂–O–C(O)–alquilen C₁₋₆–CO₂H.

En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es

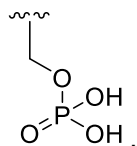


10

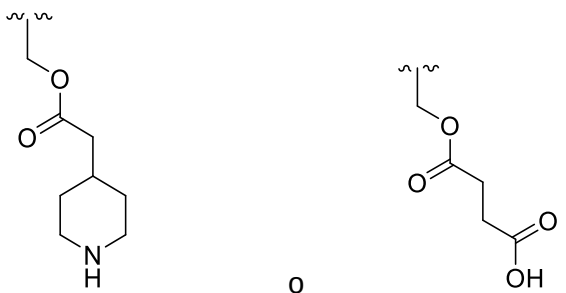
En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es



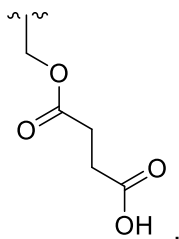
En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es



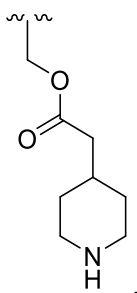
En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es



5 En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es



En algunas modalidades, X en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es



10 En algunas modalidades, R^1 en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es alquilo C_{1-4} . En algunas modalidades, R^1 en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es metilo.

En algunas modalidades, cada R^2 en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es de modo independiente halo, alcoxi C_{1-4} , o haloalcoxi C_{1-4} . En algunas modalidades, cada

R² en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es de modo independiente halo o alcoxi C₁₋₄. En algunas modalidades, cada R² en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es de modo independiente F, Cl, o metoxi. En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 2 y dos R² son Cl y metoxi.

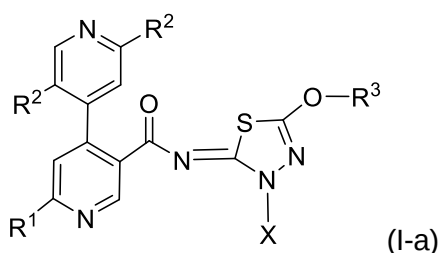
5 En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 1, 2, o 3. En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 1. En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 2. En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 3.

10 En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 2, y dos R² son halo y metoxi.

En algunas modalidades, R³ en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄. En algunas modalidades, R³ en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es alquilo C₁₋₄. En algunas modalidades, R³ en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es metilo.

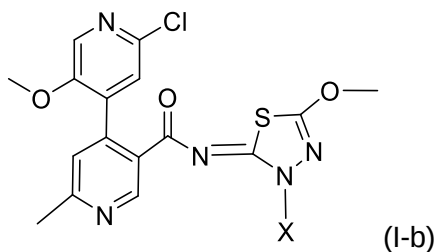
15 En algunas modalidades, R³ en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es cicloalquilo C₃₋₆ o heterocicloalquilo, en donde dicho cicloalquilo C₃₋₆ y dicho heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes R^{3a}, cada uno de los cuales se selecciona de modo independiente de halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, haloalcoxi C₁₋₄, -L³-O-alquilo C₁₋₄, -L³-OH, y oxo.

20 En algunas modalidades, el compuesto de la Fórmula (I) tiene la estructura:



en donde X, R¹, R², y R³ tienen los significados proporcionados en la presente. En algunas modalidades, R¹ es alquilo C₁₋₄, cada R² es de modo independiente halo, alcoxi C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄, y R³ es alquilo C₁₋₄.

25 En algunas modalidades, el compuesto de la Fórmula (I) tiene la estructura:



en donde X tiene los significados proporcionados en la presente.

Los compuestos de la presente descripción pueden existir en formas tautoméricas. Se debe entender que cualquier referencia a un compuesto nombrado o a un compuesto
5 representado estructuralmente pretende abarcar todos los tautómeros de dicho compuesto.

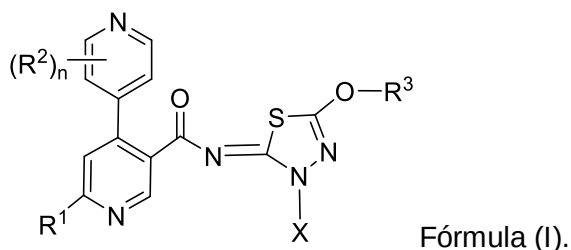
En la Tabla 1 se enumeran compuestos representativos de la Fórmula (I).

Tabla 1.

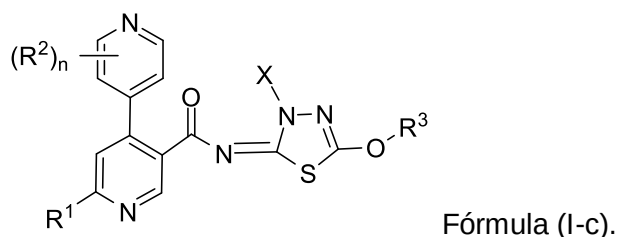
Comp #	Estructura	Comp #	Estructura
1		2	
3			

En algunas modalidades, el compuesto de la presente invención es un compuesto de
10 la Tabla 1.

Los compuestos de la Fórmula (I) se representan como un isómero (Z) con respecto al doble enlace entre el resto de tiadiazol y el nitrógeno del grupo amida:



El compuesto de la Fórmula (I) también se considera que abarca los compuestos de la Fórmula (I-c), un isómero (E):



5 Composición farmacéutica

Los compuestos de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, proporcionados en la presente pueden estar en forma de composiciones adecuadas para su administración a un sujeto. En general, dichas composiciones son composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas se pueden utilizar en todos los métodos descritos en la presente; así, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar ex vivo o in vivo a un sujeto para practicar los métodos y usos terapéuticos descritos en la presente.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para que sean compatibles con el método o la vía de administración previstos; en la presente se exponen ejemplos de vías de administración. Además, las composiciones farmacéuticas se pueden utilizar en combinación con otros agentes o compuestos terapéuticamente activos descritos en la presente para tratar las enfermedades, trastornos y afecciones contemplados en la presente descripción.

Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos,

cápsulas, troqueles, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes, soluciones, microesferas o elixires. Las composiciones farmacéuticas destinadas al uso oral se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes tal como, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y palatables. Los comprimidos, cápsulas y similares contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos, cápsulas y similares. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes, tal como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y desintegrantes, tal como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, como almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas comprenden típicamente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero sin limitación, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico y bisulfato de sodio), conservantes (por ejemplo, alcohol bencílico, metilparabenos, etilo o n-propilo, p-hidroxibenzoato), agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes dispersantes, solventes, rellenos, agentes de carga, detergentes, buffers, vehículos, diluyentes y/o adyuvantes. Por ejemplo, un vehículo adecuado puede ser una solución salina fisiológica o una solución salina buffer con citrato, posiblemente suplementada con otros materiales comunes en composiciones farmacéuticas para administración parenteral. La solución salina buffer neutra o la solución salina mezclada con albúmina sérica son otros ejemplos de vehículos. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de buffers que se pueden utilizar en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación contempladas en la presente. Los buffers típicos incluyen, pero sin limitación, ácidos débiles farmacéuticamente aceptables, bases débiles o mezclas de los mismos. Como ejemplo, los componentes buffer pueden ser materiales solubles en agua tal como ácido fosfórico, ácidos tartáricos, ácido láctico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido glutámico y sales de los mismos. Los agentes buffer aceptables incluyen, por ejemplo, un buffer Tris, ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-(2-etansulfónico) (HEPES), ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico (MES), sal sódica del ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), ácido 3-(N-Morfolino)propansulfónico (MOPS), y ácido N-

tris[Hidroximetil]metil-3-aminopropansulfónico (TAPS).

Todos los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente se pueden utilizar en todos los métodos previstos en el mismo. Por ejemplo, los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente se pueden utilizar en todos los métodos para el tratamiento y/o prevención de todas las enfermedades o trastornos proporcionados en la presente. Por lo tanto, los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente son para su uso como un medicamento.

Vías de administración

Los compuestos de la Fórmula (I) o de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones que contienen se pueden administrar de cualquier forma adecuada. Las vías de administración adecuadas incluyen oral, parenteral (p. ej., intramuscular, intravenosa, subcutánea (p. ej., inyección o implante), intraperitoneal, intracisternal, intraarticular, intracerebral (intraparenquimatosa) e intracerebroventricular), nasal, vaginal, sublingual, intraocular, rectal, tópica (p. ej., transdérmica), bucal e inhalatoria. Las inyecciones de depósito, que generalmente se administran por vía subcutánea o intramuscular, también se pueden utilizar para administrar los compuestos de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos durante un periodo de tiempo definido. Algunas modalidades particulares de la presente invención contemplan la administración oral.

Dosificación

Los compuestos de la Fórmula (I) o Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos que se proporcionan en la presente, se pueden administrar a un sujeto en una cantidad que dependa, por ejemplo, del objetivo de la administración (p. ej., el grado de resolución deseado); la edad, el peso, el sexo y el estado de salud y físico del sujeto al que se administra la formulación; la vía de administración; y la naturaleza de la enfermedad, trastorno, afección o síntoma del mismo. El régimen de dosificación también puede tener en cuenta la existencia, naturaleza y alcance de cualquier efecto adverso asociado con los agentes que se administran.

En general, los parámetros de dosificación dictan que la cantidad de dosis sea inferior a una cantidad que podría ser irreversiblemente tóxica para el sujeto (la dosis máxima tolerada (MTD)) y no inferior a una cantidad necesaria para producir un efecto mensurable en el sujeto.

Dichas cantidades se determinan, por ejemplo, mediante los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos asociados al ADME, tomando en cuenta la vía de administración y otros factores.

Una dosis efectiva (ED) es la dosis o cantidad de un agente que produce una respuesta terapéutica o un efecto deseado en alguna fracción de los sujetos que la toman. La "dosis media efectiva" o ED₅₀ de un agente es la dosis o cantidad de un agente que produce una respuesta terapéutica o un efecto deseado en el 50% de la población a la que se administra. Aunque la ED₅₀ se utiliza habitualmente como medida de expectativa razonable del efecto de un agente, no es necesariamente la dosis que un médico clínico puede considerar apropiada teniendo en cuenta todos los factores relevantes. En consecuencia, en algunas situaciones la cantidad efectiva es superior a la ED₅₀ calculada, en otras situaciones la cantidad efectiva es inferior a la ED₅₀ calculada y en otras situaciones la cantidad efectiva es igual a la ED₅₀ calculada.

Combinaciones de inhibidores de Polθ e inhibidores de Poli ADP Ribosa polimerasa (PARP)

La combinación de agentes descrita en esta sección puede mostrar un efecto sinérgico. El término "efecto sinérgico" o "sinergia", como se utiliza en la presente, se refiere a la acción de dos agentes, por ejemplo, un inhibidor de la ADN polimerasa theta (Polθ) (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II)) y un inhibidor de la poli ADP ribosa polimerasa (PARP) que producen un efecto, por ejemplo, lentificar la progresión sintomática del cáncer o sus síntomas, que es mayor que la simple suma de los efectos de cada fármaco administrado por sí mismo. Un efecto sinérgico se puede calcular, por ejemplo, utilizando métodos adecuados tal como la ecuación Sigmoid-Emax (Holford, N. H. G. y Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe, S. y Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) y la ecuación del efecto mediano (Chou, T. C. y Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Cada una de las ecuaciones mencionadas anteriormente se puede aplicar a los datos experimentales para generar un gráfico correspondiente que ayude a evaluar los efectos de la combinación de fármacos. Los gráficos correspondientes asociados a las ecuaciones mencionadas anteriormente son la curva concentración-efecto, la curva isoblograma y la curva índice de combinación, respectivamente.

En algunos aspectos, en la presente se proporciona una terapia de combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de Polθ (por ejemplo, un

compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II)) y un inhibidor de PARP. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una combinación de agentes (es decir, un inhibidor de Polθ de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y un inhibidor de PARP) es una cantidad suficiente para proporcionar una mejora observable con respecto a los signos y síntomas clínicamente observables de referencia de los trastornos tratados con la combinación. Las mejoras observables incluyen las que puede comprobar visualmente un médico y las pruebas biológicas, biopsias y ensayos.

En algunos aspectos, en la presente se proporcionan métodos de tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de Polθ de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de PARP, de este modo se trata el cáncer en el sujeto.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir a cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) y administrar al paciente una cantidad efectiva de un Inhibidor de Poli ADP ribosa polimerasa (PARP) . En una modalidad, el método para tratar y/o prevenir un cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que lo necesita comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del Ejemplo del compuesto 1 y administrar al paciente una cantidad efectiva de niraparib.

En una modalidad, el método para tratar y/o prevenir un cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que lo necesita comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del Ejemplo del compuesto 1 y administrar al paciente una cantidad efectiva de olaparib.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar y/o prevenir un cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que comprende el contacto de las células de cáncer en el paciente con una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (II) y una cantidad efectiva de un inhibidor de Poli ADP ribosa polimerasa (PARP). En una modalidad, el método para tratar y/o prevenir a cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que lo necesita comprende poner en contacto las células de cáncer en el paciente con una cantidad efectiva de Compuesto A y una cantidad efectiva de niraparib.

En una modalidad, el método para tratar y/o prevenir a cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR) en un paciente que lo necesita comprende poner en contacto las células de cáncer en el paciente con una cantidad efectiva del Compuesto A y una cantidad efectiva de olaparib.

5 En algunos aspectos, en la presente se proporcionan métodos de tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una combinación que comprende un inhibidor de Pol Θ de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y un inhibidor de PARP, junto con al menos un portador farmacéuticamente aceptable, de este modo se trata el cáncer en el sujeto.

10 En algunos aspectos, se proporciona el uso de una combinación de un inhibidor de Pol Θ de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y un inhibidor de PARP para la fabricación de un medicamento.

En otra modalidad, se proporciona el uso de una combinación de un inhibidor de Pol Θ de la Fórmula (I) o Fórmula (II) y a inhibidor de PARP para el tratamiento del cáncer.

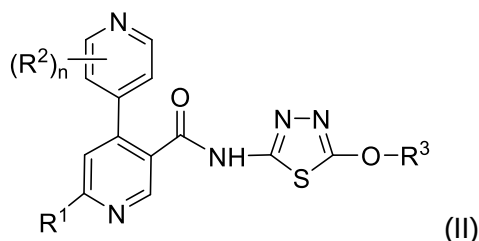
15 En algunas modalidades, el cáncer se caracteriza como cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR).

En algunas modalidades, el inhibidor de Pol Θ es un inhibidor del dominio de ATPasa de Pol Θ .

20 En algunas modalidades, el cáncer se caracteriza por la reducción o ausencia de la expresión de los genes BRCA1 y/o BRCA2, la ausencia de los genes BRCA1 y/o BRCA2, la ausencia o mutación de las proteínas BRCA1 y/o BRCA2, la reducción de la función de la proteína BRCA1 y/o BRCA2, o una combinación de las mismas.

Inhibidores de Pol Θ para la terapia de combinación con un inhibidor de PARP

25 En algunas modalidades, los inhibidores de Pol Θ adecuados para el tratamiento de terapia de combinación con inhibidores de PARP descritos en esta sección son compuestos de la Fórmula (II)



en donde:

R¹ es H, halo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄;

5 cada R² es de modo independiente halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄;

R³ es alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, o heterocicloalquilo, en donde dicho cicloalquilo C₃₋₆ y dicho heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes R^{3a}, cada uno de los cuales se selecciona de modo independiente de halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, haloalcoxi C₁₋₄, -L³-O-alquilo C₁₋₄, -L³-OH, y oxo;

10 cada L³ se selecciona de modo independiente de a bond y alquilenos C₁₋₄;

cada heterocicloalquilo tiene de 4 a 6 miembros anulares y de 1 a 3 heteroátomos como vértices del anillo seleccionados de modo independiente de N, O, y S; y

n es 0, 1, 2, o 3;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En algunas modalidades, R¹ en Fórmula (II) o submodalidades de la misma es alquilo C₁₋₄. En algunas modalidades, R¹ en Fórmula (II) o submodalidades de la misma es metilo.

En algunas modalidades, cada R² en Fórmula (II) o submodalidades de la misma es Halo, alcoxi C₁₋₄, o haloalcoxi C₁₋₄. En algunas modalidades, cada R² en Fórmula (II) o submodalidades de la misma es de modo independiente halo o alcoxi C₁₋₄. En algunas modalidades, cada R² en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es de modo independiente F, Cl, o metoxi. En algunas modalidades, n en la Fórmula (I) o una sub-modalidad de la misma es 2 y dos R² son Cl y metoxi.

20

En algunas modalidades, n en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es 1, 2, o 3. En algunas modalidades, n en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es 1. En

algunas modalidades, n en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es 2. En algunas modalidades, n en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es 3.

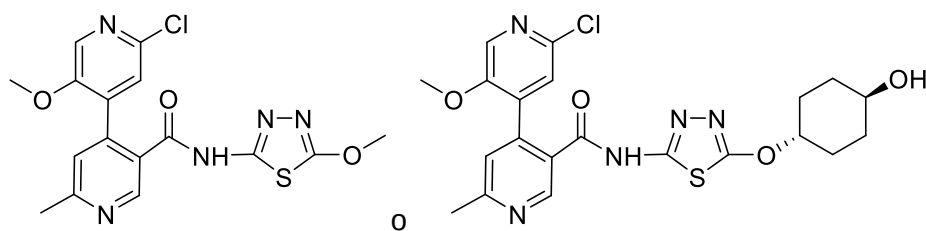
En algunas modalidades, n en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es 2, y dos R² son halo y metoxi.

- 5 En algunas modalidades, R³ en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄. En algunas modalidades, R³ en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es alquilo C₁₋₄. En algunas modalidades, R³ en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es metilo.

- 10 En algunas modalidades, R³ en Fórmula (II) o una sub-modalidad de la misma es cicloalquilo C₃₋₆ o heterocicloalquilo, en donde dicho cicloalquilo C₃₋₆ y dicho heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes R^{3a}, cada uno de los cuales se selecciona de modo independiente de halo, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, haloalcoxi C₁₋₄, -L³-O-alquilo C₁₋₄, -L³-OH, y oxo.

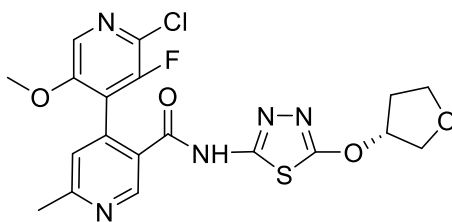
En algunas modalidades, el inhibidor de Polθ de la Fórmula (II) es

15



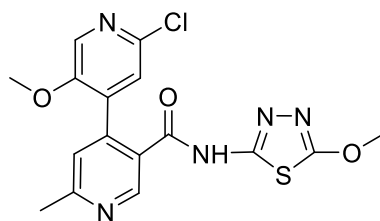
Compuesto A

Compuesto B



Compuesto C

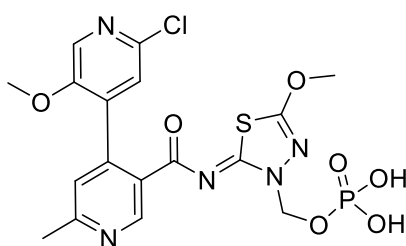
En algunas modalidades, el inhibidor de Polθ de la Fórmula (II) es el Compuesto A:



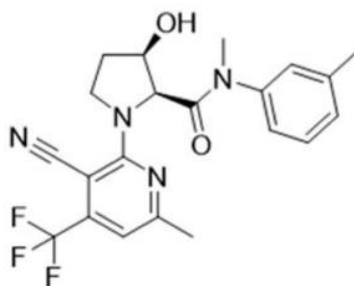
Compuesto A

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas modalidades, los inhibidores de Pol θ adecuados para el tratamiento de
 5 terapia de combinación con inhibidores de PARP descritos en esta sección son compuestos de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas modalidades, el inhibidor de Pol θ de la Fórmula (I) es el compuesto del Ejemplo 1 (“Ejemplo 1”):



En algunas modalidades, el inhibidor de Pol θ para la terapia de combinación es
 10 ART558 que tiene la estructura:

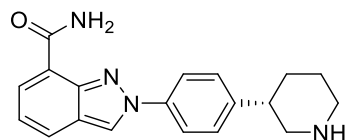


En algunas modalidades, el inhibidor de Pol θ para la terapia de combinación es
 ART4215.

Inhibidores de PARP para la terapia de combinación con inhibidores de Pol θ

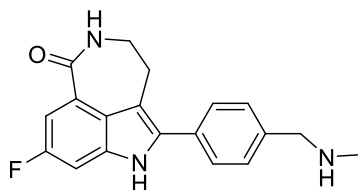
La terapia de combinación descrita en la presente proporciona inhibidores de PARP
 15 para su uso con un inhibidor de Pol θ (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula

(II)). Se conocen en la técnica varios agentes con actividad inhibidora de PARP y métodos para fabricarlos. Cada uno de estos abarca la presente descripción. En algunas modalidades, el inhibidor de PARP es

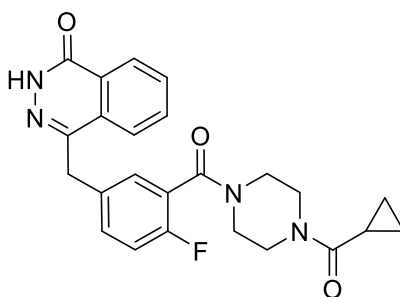


5

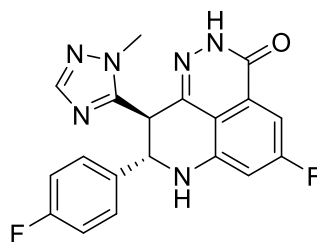
Niraparib



Rucaparib

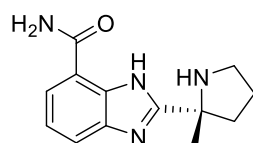


Olaparib



10

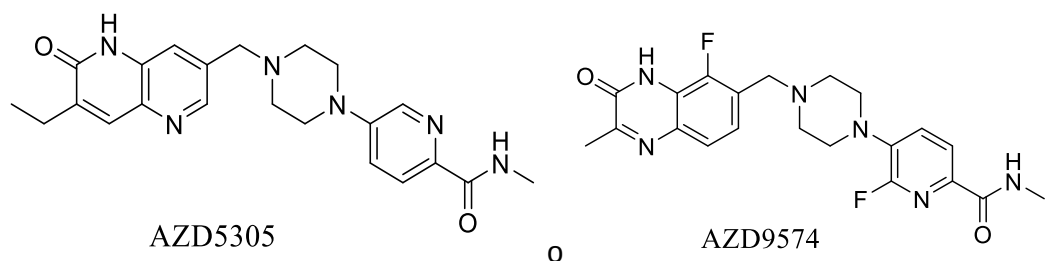
Talazoparib, o



Veliparib

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un hidrato del mismo.

En algunas modalidades, el inhibidor de PARP es



5 o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un hidrato del mismo.

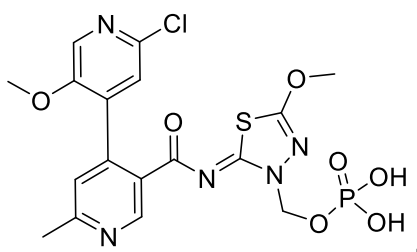
Modalidades de la terapia de combinación seleccionada

Modalidad 1. Un método de tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de Pol Θ , o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de PARP, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Modalidad 1a. El método de la modalidad 1, en donde el inhibidor de Pol Θ es un inhibidor del dominio ATPasa de Pol Θ .

Modalidad 2. El método de la modalidad 1, en donde el inhibidor de Pol Θ es un compuesto de la Fórmula (I) como se define en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

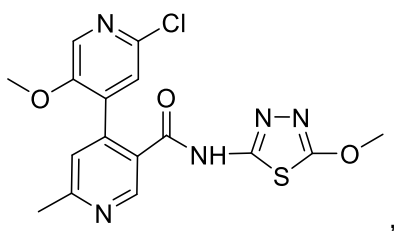
Modalidad 3. El método de la modalidad 2, en donde el inhibidor de Pol Θ es el compuesto del Ejemplo 1, que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Modalidad 4. El método de la modalidad 1, en donde el inhibidor de Pol θ es un compuesto de la Fórmula (II) como se define en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Modalidad 5. El método de la modalidad 2, en donde el inhibidor de Pol θ es el Compuesto A



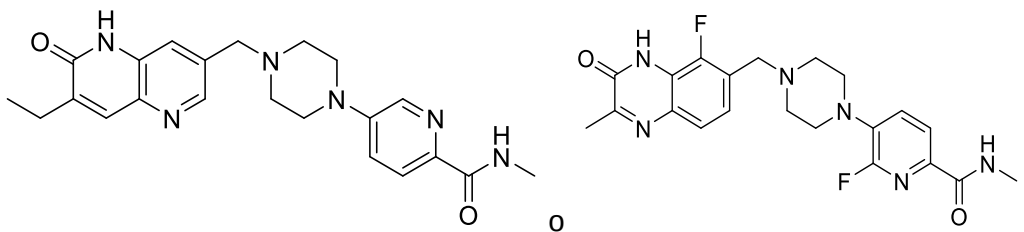
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Modalidad 6. El método de la modalidad 1, en donde el inhibidor de Pol θ es ART558 o ART4215, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Modalidad 7. El método de cualquiera de las modalidades ₁₋₆, en donde el inhibidor de PARP es seleccionado del grupo que consiste en Niraparib, Rucaparib, Olaparib, Talazoparib, y Veliparib, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un hidrato del mismo.

15 Modalidad 8. El método de cualquiera de las modalidades ₁₋₆, en donde el inhibidor de PARP es niraparib, con preferencia tosilato de niraparib monohidrato.

Modalidad 9. El método de cualquiera de las modalidades ₁₋₆, en donde el inhibidor de PARP es:



20 o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Modalidad 10. El método de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde el cáncer es un cáncer con deficiencia de recombinación homóloga (HR).

5 Modalidad 11. El método de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde el cáncer se caracteriza por la reducción o ausencia de la expresión del gen BRCA1 y/o BRCA2, la ausencia o mutación de los genes de BRCA1 o BRCA 2, o reducción de la función de las proteínas de BRCA 1 o 2.

Modalidad 12. El método de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde el cáncer es un tumor sólido.

10 Modalidad 13. El método de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde el cáncer es linfoma, tumor rabdoide, mieloma múltiple, cáncer de útero, cáncer gástrico, cáncer del sistema nervioso periférico, rhabdomyosarcoma, cáncer óseo, cáncer colorrectal, mesotelioma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer de fibroblastos, cáncer del sistema nervioso central, cáncer de las vías urinarias, cáncer aerodigestivo superior, leucemia, cáncer de riñón, cáncer de piel, cáncer de esófago y cáncer de páncreas.

15 Modalidad 14. El método de cualquiera de las modalidades 1-13, en donde el cáncer es resistente al inhibidor de PARP o ha desarrollado resistencia a la terapia del inhibidor de PARP.

Modalidad 15. El método de cualquiera de las modalidades 1-14, en donde el inhibidor de Pol Θ y el inhibidor de PARP están en formas de dosis separadas.

20 Modalidad 16. El método de cualquiera de las modalidades 1-14, en donde el inhibidor de Pol Θ y el inhibidor de PARP están en la misma forma de dosis.

Modalidad 17. Una combinación que comprende un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y a inhibidor de PARP, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Modalidad 18. La combinación de la modalidad 17, en donde el inhibidor de PARP es Niraparib, Rucaparib, Olaparib, Talazoparib, y Veliparib, AZD5305, o AZD9574, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 Modalidad 19. Un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en el tratamiento de cáncer, en donde el compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II) se debe administrar de forma simultánea o

secuencial con un inhibidor de PARP.

Modalidad 20. El uso de la modalidad 19, en donde el inhibidor de PARP es Niraparib, Rucaparib, Olaparib, Talazoparib, y Veliparib, AZD5305, o AZD9574, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Modalidad 21. Uso de un compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II) en la fabricación de un medicamento para tratar cáncer, en donde el compuesto de la Fórmula (I) o Fórmula (II) se debe administrar de forma simultánea o secuencial con un inhibidor de PARP.

- 10 Modalidad 22. El uso de la modalidad 21, en donde el inhibidor de PARP es Niraparib, Rucaparib, Olaparib, Talazoparib, y Veliparib, AZD5303, o AZD9574 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

EJEMPLOS

- 15 Los siguientes ejemplos y referencias (intermediario) se presentan con el fin de proporcionar a los expertos en la materia una descripción y descripción completas de cómo realizar y utilizar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención, ni pretenden representar que los experimentos a continuación se realizaron o que son todos los experimentos que se pueden realizar. Se debe entender que los ejemplos de descripciones escritas en presente no se realizaron necesariamente, sino que las descripciones se pueden realizar para generar datos y similares de la naturaleza descrita en las mismas. Se ha procurado asegurar la exactitud de las cifras utilizadas (por ejemplo, 20 cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales.

- 25 A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio, la temperatura es en grados Celsius (°C) y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica. Se utilizan abreviaturas estándar, incluidas las siguientes: THF = tetrahidrofurano; EtOAc = acetato de etilo; TFA = ácido trifluoroacético; DCM = diclorometano; DMSO = dimetilsulfóxido; DMF = dimetilformamida; BOC = ter-butoxicarbonilo; TCFH = hexafluorofosfato de N,N,N,N'-tetrametilcloroformamidinio; NMI = N-metilimidazol; TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio; DIBAL-H = hidruro de diisobutilaluminio; LDA = diisopropilamida de litio.

- 30 **HPLC autopreparativa dirigida por masas (MDAP)**

Para la preparación de los compuestos de esta invención se utilizó HPLC autopreparativa dirigida por masas, y las condiciones se indican a continuación. La detección UV fue una señal promediada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas utilizando ionización por electrospray en modo positivo y negativo de barrido alterno.

MDAP Método B

El método B se llevó a cabo en una columna Xselect CSH C18 (normalmente de 150 mm x 30 mm de diámetro interior y 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente. Los solventes empleados fueron:

A = 0,1% v/v solución de ácido fórmico en agua

B = 0,1% v/v solución de ácido fórmico en acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal de flujo (ml/min)	%A	%B
0	40	85	15
1	40	85	15
10	40	45	55
10,5	40	1	99
15	40	1	99

MDAP Método C

El método C se llevó a cabo en una columna Xselect CSH C18 (normalmente de 150 mm x 30 mm de diámetro interior y 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente. Los solventes empleados fueron:

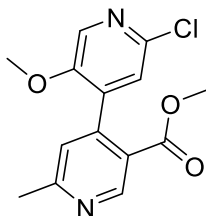
A = 0,1% v/v solución de ácido fórmico en agua

B = 0,1% v/v solución de ácido fórmico en acetonitrilo.

El gradiente empleado fue:

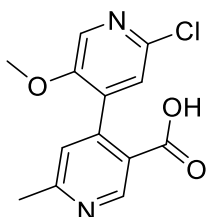
como un sólido marrón. MS (ESI) calculado para (C₆H₇BClNO₃) (M+1)⁺, 188,0; experimental 188,0.

Etapa 2: 2-cloro-5-metoxi-6-metil-(4,4-bipiridin)-3-carboxilato de metilo



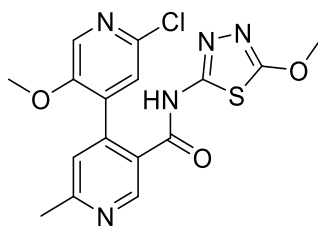
5 A una disolución desgasificada de 4-cloro-6-metilpiridin-3-carboxilato de metilo (700 mg, 3,77 mmol) y ácido 2-cloro-5-metoxipiridin-4-ilborónico (918 mg, 4. 90 mmol) en dioxano (6 ml) y H₂O (2 ml) se añadieron Pd(dppf)Cl₂ (275 mg, 0,37 mmol) y K₂CO₃ (1563 mg, 11,31 mmol) en porciones a 80 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 16 h en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se filtró y la torta del filtro se
10 lavó con EtOAc (3x20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en columna con 0~60% de acetato de etilo en éter de petróleo para obtener 2-cloro-5-metoxi-6-metil-(4,4'-bipiridina)-3-carboxilato de metilo (220 mg, 19,9%) como sólido blanco. MS (ESI) calculado para (C₁₄H₁₃ClN₂O₃) (M+1)⁺, 293,1; experimental 293,1.

15 Etapa 3: ácido 2-cloro-5-metoxi-6-metil-(4,4'-bipiridin)-3-carboxílico



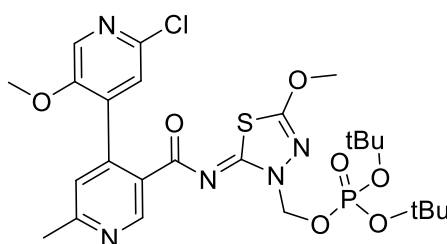
 A una solución agitada de 2-cloro-5-metoxi-6-metil-(4,4'-bipiridina)-3-carboxilato de metilo (220 mg, 0,75 mmol) en THF (3 ml) y agua (1 ml) se añadió LiOH.H₂O (126 mg, 3,01 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se
20 acidificó a pH 3 con ácido cítrico. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener ácido 2-cloro-5-metoxi-6-metil-(4,4'-bipiridina)-3-carboxílico (160 mg, 76,3%) como un sólido blanco. MS (ESI) calculado para (C₁₃H₁₁ClN₂O₃) (M+1)⁺, 279,0; experimental, 279,0.

Etapa 4: 2'-cloro-5'-metoxi-N-(5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-6-metil-(4,4'-bipiridin)-3-carboxamida



A una solución de ácido 2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carboxílico (50 g, 169 mmol) en MeCN (500 ml) se añadió 1-metilimidazol (69,2 g, 843 mmol) y 5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-amina (24,31 g, 185 mmol) en una porción a 25 °C. Se añadió una solución de TCFH (52 g, 185 mmol) en MeCN (500 ml). Se añadió gota a gota una disolución de TCFH (52 g, 185 mmol) en MeCN (500 ml) bajo nitrógeno a 25 °C. Después de agitar a 25 °C durante 4 h, la mezcla se filtró y la torta de filtración se lavó con una solución de MeCN : agua = 1 : 1 (200 ml). La torta de filtración se secó al vacío a 45 °C para dar 2'-cloro-5'-metoxi-N-(5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-6-metil-(4,4'-bipiridina)-3-carboxamida (57 g, 79% de rendimiento ajustado para una pureza del 96%) como sólido blanquecino. MS (ESI) calculado para (C₁₆H₁₄ClN₅O₃S) (M+1)⁺, 392,0, experimental 392,1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,93 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 4,08 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 2,59 (s, 3H).

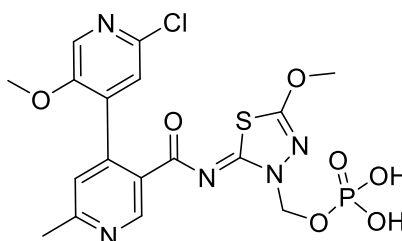
Etapa 5: ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) fosfato de (Z)-di-ter-butilo



Se enfrió a 20 °C una mezcla de 30 g (77,0 mmol) de 2'-cloro-5'-metoxi-N-(5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carboxamida y 300 ml de DMF. A la mezcla se añadieron 31,7 g (230 mmol) de K₂CO₃, 12,7 g (77,0 mmol) de KI, seguidos de la adición de 39,6 g (153 mmol) de fosfato de di-ter-butilo (clorometilo) durante unos 10 minutos. La mezcla se agitó a 20 °C durante 24 h. La reacción se calentó hasta 25 °C, se diluyó con 300 ml de EtOAc y se inactivó con 375 ml de agua. Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó sucesivamente con 300 ml de agua y 300 ml de solución acuosa de NaCl 10 % en peso.

Después de enfriar a 10 °C, la solución se trató con 300 ml de heptano durante unas 3 h. La suspensión se agitó durante la noche, se filtró, se lavó sucesivamente con 60 ml de heptano al 60% en EtOAc y 2x90 ml de heptano. La torta húmeda se secó al vacío a 50 °C durante la noche para proporcionar 27,0 g (57% de rendimiento) de fosfato ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) de (Z)-di-ter-butilo como sólido blanquecino. MS (ESI) calculado para (C₂₅H₃₃ClN₅O₇PS) (M+1)⁺, 614,2; experimental 614,2. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,29 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,85 (br d, 2H, J=10,3 Hz), 4,07 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 1,39 (s, 18H).

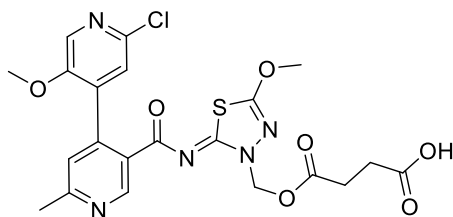
Etapas 6: Dihidrógeno fosfato de (Z)-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metilo



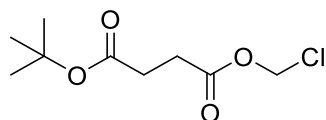
Se calentó a 35 °C una mezcla de 5 g (8,14 mmol) de ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) fosfato de (Z)-di-ter-butilo y 20 ml de agua. A la suspensión se añadieron 15 ml (398 mmol) de ácido fórmico durante aproximadamente 10 min. La mezcla se agitó durante aproximadamente 4 h, seguida de la adición de 70 ml de agua durante aproximadamente 2 h. Después de enfriarse a 10 °C, la suspensión se agitó durante la noche, se filtró y se lavó sucesivamente con 2x25 ml de agua y 2x25 ml de THF. La torta húmeda se secó al vacío a 50 °C durante la noche para proporcionar 3,23 g (79% de rendimiento antes del secado, 72% de rendimiento después del secado) de dihidrogenofosfato de (Z)-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil como sólido blanquecino. MS (ESI) calculado para (C₁₇H₁₇ClN₅O₇PS) (M+1)⁺, 502,0; experimental 502,1. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,30 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,81 (d, 2H, J=9,3 Hz), 4,07 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 2,58 (s, 3H).

Ejemplo 2

Ácido (Z)-4-((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi)-4-oxobutanoico



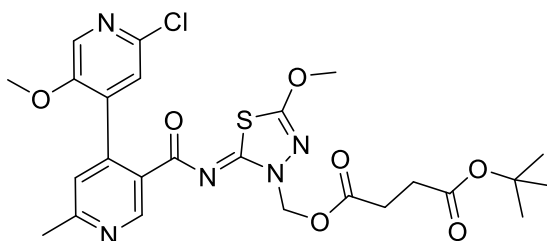
Etapa 1: (clorometil)succinato de ter-butilo



5 A una solución de ácido 4-(ter-butoxi)-4-oxobutanoico (1,507 g, 8,65 mmol) en una mezcla de solventes de etanol (37,5 ml) y agua (5,5 ml) se añadió carbonato de cesio (1,409 g, 4,33 mmol). La mezcla se sonicó brevemente y después se agitó durante 15 minutos. Se evaporaron los solventes y el residuo se secó durante la noche a alto vacío.

La sal Cs seca de ácido 4-(ter-butoxi)-4-oxobutanoico se disolvió en N,N-dimetilformamida (DMF) (27,5 ml), se añadió bromoclorometano (36,6 ml, 562 mmol) y la
10 solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se filtró el precipitado y se evaporó el exceso de bromoclorometano. A la solución de DMF restante se añadieron 50 ml de salmuera y 50 ml de agua. La mezcla luego se extrajo con EtOAc (40+20+20 ml), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó. El producto bruto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz,
15 DMSO-d₆) δ 5,86 (s, 2H), 2,58-2,66 (m, 2H), 2,48-2,53 (m, J=1,70, 1,70, 3,50 Hz, 2H), 1,39 (s, 9H).

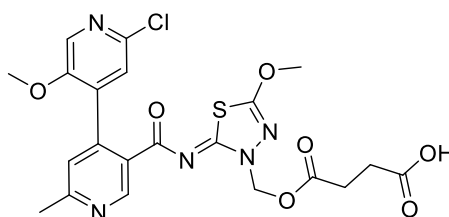
Etapa 2: ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) succinato de (Z)-ter-butilo



20 Una mezcla de 2'-cloro-5'-metoxi-N-(5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carboxamida (250 mg, 0,638 mmol), (clorometil) succinato de ter-butilo (320 mg,

1,436 mmol), KI (106 mg, 0,638 mmol) y K₂CO₃ (265 mg, 1,914 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF). 436 mmol), KI (106 mg, 0,638 mmol) y K₂CO₃ (265 mg, 1,914 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (5 ml) se agitó a 50 °C durante 3 horas. La mezcla se enfrió, se añadieron 10 ml de salmuera y 10 ml de agua, se extrajo con EtOAc, la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (columna Isco RediSep Rf Gold de 12 g, eluyendo con 0-50% (EtOAc/EtOH 3/1) en hexano para proporcionar ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4, 4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) succinato de (Z)-ter-butilo (216 mg, 0. 374 mmol, 58,6 % de rendimiento) como espuma sólida. MS (ESI) calculado para (C₂₅H₂₈ClN₅O₇S) (M+1)⁺, 578,1; experimental 578,1. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,16 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 5,94 (s, 2H), 4,05 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 2,6-2,6 (m, 6H), 2,49 (br s, 1H), 1,34 (s, 9H).

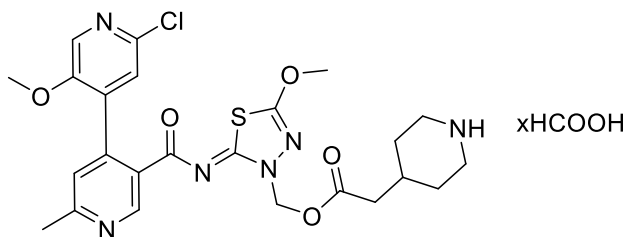
Etapas 3: Ácido (Z)-4-((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi)-4-oxobutanoico



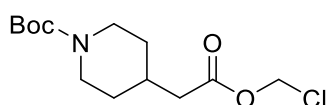
Se disolvió ((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil) succinato de (Z)-ter-butilo (216 mg, 0,374 mmol) en diclorometano (DCM) (10 ml). Se añadió TFA (3 ml, 38,9 mmol) y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 50 minutos, cuando se evaporó a sequedad. El producto se aisló por HPLC preparativa (Método MDAP B, TFA) para proporcionar ácido (Z)-4-((2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi)-4-oxobutanoico (136 mg, 0,261 mmol, 69,7 % de rendimiento) como un liofilizado blanco. El liofilizado se cristalizó mediante la suspensión en 5 ml de éter, se sometió a sonicación durante unos minutos y después en suspensión a temperatura ambiente durante la noche. El sólido se filtró y se secó para proporcionar 106 mg de material cristalino blanco. MS (ESI) calculado para (C₂₁H₂₀ClN₅O₇S) (M+1)⁺, 522,1, experimental 522,1. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,16 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,94 (s, 2H), 4,05 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,4-3,5 (m, 1H), 2,6-2,7 (m, 6H), 2,53 (d, 1H, J=4,4 Hz)

Ejemplo 3

(Z)-2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil 2-(piperidin-4-il)acetato, sal de ácido fórmico



Etapla 1: 4-(2-(clorometoxi)-2-oxoetil)piperidin-1-carboxilato de ter-butilo



5

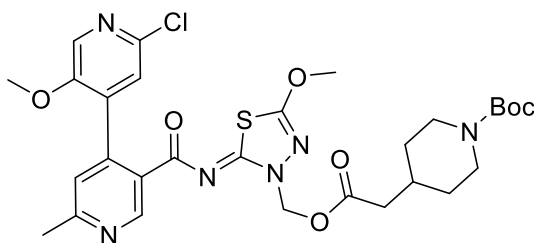
A una solución de ácido 2-(1-(ter-butoxicarbonil)piperidin-4-il)acético (1,5 g, 6,04 mmol) en una mezcla de solventes de etanol (37,5 ml) y agua (5,5 ml) se añadió carbonato de cesio (0,994 g, 3,02 mmol). La mezcla se sonicó brevemente y se agitó durante 1 hora. Los solventes se evaporaron y el residuo se secó durante la noche a alto vacío.

10 La sal Cs de ácido 2-(1-(ter-butoxicarbonil)piperidin-4-il)acético seca se disolvió en N,N-dimetilformamida (DMF) (27,5 ml) y se añadió bromoclorometano (25,5 ml, 393 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El exceso de bromoclorometano se evaporó. A la suspensión restante se añadieron 100 ml de agua helada. La mezcla se extrajo con EtOAc (30+25 ml), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera

15 (1x), se secó sobre sulfato de Mg y se evaporó para proporcionar 4-(2-(clorometoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de ter-butilo (1,735 g, 5,95 mmol, 98 % de rendimiento) como un aceite amarillo pálido. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 5,85 (s, 2H), 3,90 (br d, 2H, J=12,2 Hz), 2,37 (d, 2H, J=6,8 Hz), 1,86 (dtd, 1H, J=3,7, 7,6, 15,0 Hz), 1,6-1,7 (m, 2H), 1,3-1,5 (m, 11H), 1,06 (dq, 2H, J=4,4, 12,2 Hz).

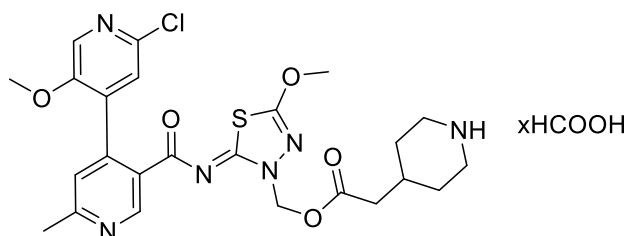
20

Etapla 2: (Z)-4-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi)-2-oxoetil)piperidin-1-carboxilato de ter-butilo



Una mezcla de 2'-cloro-5'-metoxi-N-(5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carboxamida (100 mg, 0,255 mmol), 4-(2-(clorometoxi)-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de ter-butilo (0.124 ml, 0,510 mmol), KI (42,4 mg, 0,255 mmol) y K₂CO₃ (106 mg, 0,766 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (2 ml) se calentó a 50 C° durante 40 minutos. La mezcla se diluyó con 2 ml de DMF, se filtró y se acidificó con 50 µL de ácido fórmico (FA). El producto se aisló por HPLC preparativa (método MDAP C, FA) para proporcionar (Z)-4-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridina]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi-2-oxoetil)piperidina-1-carboxilato de ter-butilo (153 mg, 0,236 mmol, 93 % de rendimiento). El material se utilizó sin purificación adicional en la siguiente etapa. MS (ESI) calculado para (C₂₉H₃₅ClN₆O₇S) (M+1)⁺, 647,2, experimental 647,3.

Etapa 3: (Z)-4-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil 2-(piperidin-4-il)acetato, sal de ácido fórmico



A una solución de (Z)-4-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metoxi-2-oxoetil)piperidin-1-carboxilato de ter-butilo (150 mg, 0,232 mmol) en diclorometano (DCM) (4 ml) se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (4,00 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos cuando se evaporó. El producto se aisló por HPLC preparativa (MDAP Método B, FA) para proporcionar (Z)-4-(2-((2'-cloro-5'-metoxi-6-metil-[4,4'-bipiridin]-3-carbonil)imino)-5-metoxi-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil 2-(piperidin-4-il)acetato, sal de ácido fórmico (74 mg, 0,125 mmol, 53,8 % rendimiento) como un liofilizado blanco. MS (ESI) calculado para (C₂₄H₂₇ClN₆O₅S) (M+1)⁺, 547,1, experimental 547,2.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 9,15 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,94 (s, 2H), 4,04 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 3,03 (br d, 2H, J=12,2 Hz), 2,6-2,7 (m,

2H), 2,57 (s, 3H), 2,35 (d, 2H, J=6,8 Hz), 1,8-2,0 (m, 1H), 1,70 (br d, 2H, J=11,7 Hz), 1,1-1,3 (m, 3H).

Ejemplos biológicos

1. Tasas de hidrólisis de profármacos (Ejemplo 1)

5 El compuesto del Ejemplo 1 ("Ejemplo 1") es un profármaco de fosfato altamente soluble de la molécula original activa, el Compuesto A. El Ejemplo 1 es escindido por fosfatasas alcalinas en el borde en cepillo de las microvellosidades del intestino y genera el Compuesto A.

10 La cinética de hidrólisis para el Ejemplo 1, kcat, Km y kcat/Km, se determinó con fosfatasas alcalinas recombinantes humanas, ratón y rata de fuentes comerciales utilizando la proteína sensor de fosfato de Invitrogen.

15 El Ejemplo 1 se hidrolizó con eficiencias similares por fosfatasas alcalinas recombinantes humanas, ratón y rata (Tabla 2). Se ensayaron tres fosfatasas alcalinas (APasa) comercialmente disponibles para la tasa de hidrólisis del Ejemplo 1. Las enzimas humana y de rata son fosfatasas alcalinas intestinales, mientras que la APasa de ratón es una isozima no específica de tejido, lo que puede explicar algunas de las diferencias en los parámetros cinéticos.

Tabla 2: Comparación de la cinética de hidrólisis del Ejemplo 1 en fosfatasas alcalinas recombinantes de rata, ratón y humana.

	rAPasa humana			rAPasa de ratón			rAPasa de rata		
Ejemplo	kcat	Km	kcat/Km	kcat	Km	kcat/Km	kcat	Km	kcat/Km
1	(s ⁻¹)	(μM)	(μM ⁻¹ s ⁻¹)	(s ⁻¹)	(μM)	(μM ⁻¹ s ⁻¹)	(s ⁻¹)	(μM)	(μM ⁻¹ s ⁻¹)
#1	11	3,7	3,1	10	3,7	2,8	14	5,2	2,7
#2	11	3,5	3,0	11	4,0	2,7	15	7,8	2,0

20

2. Actividad bioquímica del Compuesto A

El compuesto A es un potente inhibidor de la actividad ATPasa (pIC50 = 7,8) en el dominio helicasa de Polθ, como se demostró utilizando un ensayo bioquímico de ATPasa de Polθ. En consonancia con la alta homología de secuencia de Polθ entre especies, se observó

una inhibición similar de Polθ con el Compuesto A cuando se probó entre especies (rata, pIC50 = 8,0; perro, pIC50 = 7,8; ratón, pIC50 = 7,8; mono, pIC50 = 7,9). La actividad ATPasa del dominio helicasa recombinante Polθ se midió en un ensayo de actividad enzimática. La producción de ADP a partir de sustrato ATP se determinó en un ensayo enzimático acoplado
5 ligado a la producción de NAD⁺. La producción de NAD⁺ se midió mediante el monitoreo de los cambios de absorbancia a 340 nm de forma cinética. Los gradientes de los gráficos de velocidad se determinaron para cada concentración del Compuesto A y se expresaron como % de inhibición de la actividad enzimática. Los datos muestran la media ± SD.

Además, se demostró que el Compuesto A tiene una selectividad >1000 veces mayor
10 para Polθ frente a Hel308, que comparten un 26% de identidad de secuencia y un 40% de similitud de secuencia.

3. Actividad celular del Compuesto A

La concentración celular en estado estacionario del compuesto A se midió en células HeLa después de 4 horas de exposición a 20 mM de compuesto A (Tabla 3). Sobre la base
15 de la fracción libre calculada del 5,12%, se calcula que la concentración celular libre del compuesto A es de 3,087 μM (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración intracelular del Compuesto A medido en células HeLa

Compuesto	Concentración celular total (μM)	Fu	Concentración celular libre (μM)
Compuesto A	60,308	0,0512	3,087

4. Ensayo de solubilidad & PK

La solubilidad del Compuesto A en FASSIF (fluido intestinal simulado en estado de ayuno) es de 13 ug/ml. La solubilidad en FASSIF de los profármacos (Ejemplos 1, 2 y 3) es
20 mayor de a 1000 ug/ml, 72 ug/ml y 839 ug/ml, respectivamente.

Se midieron los datos farmacocinéticos de los compuestos profármacos de los Ejemplos 1 y 2 y del compuesto original (Compuesto A). Se administró por vía oral a ratas
25 Wistar-Han una formulación de metilcelulosa 1% con cada compuesto a las dosis indicadas en la Tabla 4 siguiente. Se recogieron muestras de sangre hasta las 24 horas y las muestras

se analizaron por LC-MS/MS para determinar la concentración del Compuesto A en los tres grupos.

Tabla 4

	Dosis (mg/kg)	Dosis original real (mg/kg)	C_{max} original (µg/ml)	AUC_{last} original (µg*h/ml)
Compuesto A	30	30	6,20	79,7
Ejemplo 1	30,0	23,4	14,0	128,0
Ejemplo 2	29,9	22,5	6,78	89,0

5. Evaluación del índice de sinergia de la combinación in vitro con el Compuesto A y un inhibidor de PARP

La eficacia celular del compuesto A, niraparib y la combinación del compuesto A y niraparib se evaluó como % de viabilidad celular en un ensayo CellTiter-Glo® (CTG) de 7 días utilizando la línea de cáncer de mama mutante BRCA1 MDA-MB-436 y la línea celular de cáncer de ovario mutante BRCA2 PEO1. Los valores de EC50 de agente único para el compuesto A fueron superiores a 30 µM en ambas líneas celulares.

La sinergia entre el Compuesto A y el niraparib se evaluó en la línea celular de cáncer de mama mutante BRCA1, MDA-MB-436. Las células se trataron con una matriz de fármacos 8x5, con una dilución de tres veces de 8 puntos que varía de 30 µM a 0,014 µM de Compuesto A, y una dilución de tres veces de 5 puntos que varía de 100 nM a 1,2 nM Niraparib. Después de 7 días, se evaluó la viabilidad celular con el ensayo CTG. Las curvas dosis-respuesta se interpolaron utilizando GraphPad Prism 9ART, y la sinergia de las combinaciones de fármacos utilizando los datos de los ensayos de viabilidad celular se analizó con ComBenefit 2,02 (Tabla 4). Las puntuaciones de sinergia del co-tratamiento del Compuesto A y Niraparib se calcularon utilizando Combeneft. Se muestran las puntuaciones de sinergia para las matrices de combinación calculadas con los modelos Bliss, HAS (menos estricto) y Loewe (más estricto). Los resultados mostraron que Niraparib sinergiza con el Compuesto A y disminuye los valores EC50 del Compuesto A en células MDA-MB-436.

Utilizando el mismo montaje experimental, también se evaluó la sinergia entre el compuesto A y niraparib en células PEO1, una línea celular de cáncer de ovario mutante

BRCA2. Las curvas dosis-respuesta se interpolaron utilizando GraphPad Prism 9 (Figura 4A), y la sinergia de las combinaciones de fármacos se analizó con ComBenefit 2,02 (Tabla 4). Los resultados mostraron que Niraparib sinergiza con el Compuesto A y disminuye los valores EC50 del Compuesto A en las células PEO1.

5 Tabla 4: Valores del EC50 Compuesto A en combinación con la concentración de Niraparib indicada.

Compuesto A EC50 (nM)	Niraparib (nM)					Puntuación de sinergia (ComBenefit)		
	0	3	10	30	100	Loewe	Bliss	HAS
MDA-MB-436	>30	n/a	596	189	162	19	8	19
PEO1	>30	250	79	58	n/a	36	20	38

El análisis de líneas celulares adicionales confirmó los efectos sinérgicos de la combinación del Compuesto A y Niraparib en varios modelos in vitro con deficiencia de recombinação homóloga (HR-D), resumidos en la Tabla 5.

10

Tabla 5. Resumen de las líneas celulares HR-D que mostraron la eficacia de la combinación del Compuesto A y Niraparib.

Línea celular	Linaje	Estado HR	Comb Benefit	Formato del ensayo
PEO1	Ovario	BRCA2-mut. pTyr1655Ter	Sí	7 días CTG
DoTc2-4510	Cervical	BRCA2-mut. pR3128	Sí	10 días de viabilidad de recuento nuclear
MDA-MB-436	Mama	BRCA1-Homo mut,5396 + 1G>A	Sí	7 días CTG
SNU601	Gástrico	Promotor Rad51 metilado	Sí	7 días de viabilidad de recuento nuclear
DLD1 BRCA2 KO	Colorrectal	BRCA2 KO	Sí	14 días CFA

La sinergia entre ART558 y niraparib se evaluó en células MDA-MB-436. Ver la Tabla 6.

Tabla 6: EC₅₀ de la combinación de ART558 y niraparib en células MDA-MB-436.

MDA-MB-436 EC ₅₀ (nM) de Artios' POLQi	Niraparib (nM)			
	0	10	30	100
ART558	>100,000	3,985	1,758	1,023

5 Los efectos sinérgicos del compuesto A y ART558 se confirmaron con talazoparib. Ver la Tabla 7.

Tabla 7: EC₅₀ del Compuesto A o ART558 en combinación con Talazoparib en células MDA-MB-436.

MDA-MB-436 EC ₅₀ (nM)	Talazoparib (nM)				Puntuación de sinergia (ComBenefit)		
	0	1,2	3,7	10	Loewe	Bliss	HAS
Compuesto A	>30,000	95	319	803	14	9	14
ART558	>30,000	2,295	1,087	n/a	16	7	18

10 6. Estudio de eficacia del Compuesto A en modelo de xenoinjerto de línea celular humana deficiente de HR MDA-MB-436

15 El efecto del compuesto A sobre el crecimiento tumoral in vivo se evaluó en ratones portadores de xenoinjertos de la línea celular BRCA1 MDA-MB-436 mutante. Se implantaron diez millones (10e7) de células viables MDA-MB-436 con un 50% de Matrigel en el flanco de ratones hembra NSG (Jax) de 5-7 semanas de edad. Cuando el volumen del tumor alcanzó un tamaño de alrededor de 200 mm³, los animales se aleatorizaron al estudio de eficacia. A los animales portadores de tumores MDA-MB-436 se les administró dos veces al día el vehículo (metilcelulosa 0,5%) BID, PO o el compuesto A 10 mg/kg BID o 30 mg/kg BID, PO solo o en combinación con niraparib 35 mg/kg QD, PO.

El efecto del compuesto A sobre el crecimiento tumoral in vivo se evaluó en ratones hembra NSG de 5-7 semanas de edad portadores del modelo MDA- MB-436 CDX mutante BRCA1. El compuesto A en dosis de 30 mg/kg BID PO indujo una inhibición significativa pero modesta del crecimiento tumoral 24% ($p<0,05$). Niraparib en dosis de 35 mg/kg QD también indujo un cambio significativo del volumen tumoral en comparación con el vehículo, 72% TGI en el día 43 ($p<0,05$). Cuando niraparib se trató en combinación con el Compuesto A BID a dosis de 10 mg/kg y 30 mg/kg, se observó una regresión tumoral completa (figura 1). Estos estudios in vivo sugieren que el compuesto A es sinérgico en combinación con niraparib en el modelo CDX de TNBC con deficiencia de RH.

Para explorar la dosis eficaz más baja del compuesto A con niraparib clínicamente relevante de 25 mg/kg (correspondiente dosis clínica de 200 mg), se evaluó la eficacia del régimen BID y QD del compuesto A que varía de 0,2 mg/kg hasta 6 mg/kg de estudio. Se observó una respuesta limitada en monoterapia a la dosis BID de 1 mg/kg del compuesto A, mientras que el niraparib a la dosis QD de 25 mg/kg retrasó el crecimiento tumoral aproximadamente 40 días en comparación con el vehículo (volumen tumoral hasta alcanzar 1200 mm³ 21 días de vehículo frente a 61 días de niraparib) (figura 2). La combinación de 25 mg/kg de niraparib y el compuesto A administrado a 0,1, 0,3, 1 o 3 mg/kg BID produjo regresión tumoral en el 10, 30, 50 y 90% de los ratones, respectivamente. La combinación de 25 mg/kg de niraparib y el compuesto A administrado a 0,2, 0,6, 2 o 6 mg/kg QD produjo regresiones tumorales en el 20, 20, 80 y 100% de los ratones, respectivamente. El compuesto A administrado a 1 mg/kg BID con 25 mg/kg de niraparib produjo regresión tumoral en el 50% de los ratones. La frecuencia de las regresiones tumorales aumentó mediante el escalado de las dosis del compuesto A (figura 2).

7. Estudio de eficacia del Compuesto A en un modelo de PDX ovárico mutante BRCA

Se llevó a cabo un estudio de eficacia in vivo utilizando un modelo 134-T de xenoinjerto derivado de paciente (PDX) de carcinoma de ovario progresivo con inhibidor de PARP y deficiencia de HR (mutación de cambio de marco (FS) BRCA1).

A ratones hembra NOD SCID gamma (NSG) se les implantaron fragmentos de 4 mm x 4 mm del modelo PDX de cáncer de ovario 134-T deficiente en HR (mutación BRCA1) y cuando el volumen tumoral medio fue de alrededor de 150 mm³, los animales se aleatorizaron y trataron con niraparib (25 mg/kg QD) o el compuesto A a dosis BID de 1 mg/kg o en combinación con Niraparib 25 mg/kg y dosis del compuesto A que varía de 0,1 mg/kg BID a 6

mg/kg. No hubo respuesta significativa en monoterapia a la dosis BID de 1 mg/kg del compuesto A, ($p=0,77$) mientras que niraparib solo a 25 mg/kg QD produjo una inhibición del crecimiento tumoral del 58% ($p=0,005$) (figura 3). Ambas dosis BID de 1 mg/kg y 3 mg/kg de compuesto A con niraparib produjeron una reducción estadísticamente significativa del volumen tumoral en el día 28 en comparación tanto con el vehículo como con el niraparib (TGI % 97 y 105, respectivamente) ($p=0,03$ para ambos) (figura 3).

8. Estudio de eficacia del Ejemplo 1 del profármaco y Compuesto A en un modelo PDX ovárico mutante *BRCA*

El efecto del profármaco del ejemplo 1 y el compuesto A sobre el crecimiento tumoral se evaluó en ratones portadores del modelo PDX de ovario 134-T. Niraparib a dosis de 25 mg/kg QD condujo a una diferencia significativa en el volumen tumoral en comparación con el vehículo (TGI 60%, $p<0,0001$) y 1 mg/kg BID de dosis del compuesto A en combinación con niraparib condujo a una diferencia significativa en el volumen tumoral en comparación con el vehículo y niraparib con TGI 92% ($p<0,001$) (figura 4). Y la dosis de 1 mg/kg BID del Ejemplo 1 como combinación con niraparib demostró una diferencia estadísticamente significativa en el volumen tumoral en comparación con el vehículo y el niraparib con TGI de 103% ($p<0,001$) (figura 4). Estos resultados sugieren que el profármaco del Ejemplo 1 demostró una eficacia de combinación robusta con niraparib en un modelo PDX 134-T deficiente de HR.

9. Estudio de eficacia del Ejemplo 1 del profármaco en modelo CDX TNBC MDA-MB-436

La eficacia del Ejemplo 1 del profármaco en combinación con niraparib, olaparib en el modelo CDX de TNBC MDA-MB 436. Se implantaron diez millones ($10e^7$) de células viables MDA-MB-436 con un 50% de Matrigel en el flanco posterior de ratones NSG (Jax) de 5-7 semanas de edad. Cuando el volumen del tumor alcanzó un tamaño aproximado de 200 mm³, los animales se aleatorizaron al estudio de eficacia. Los animales portadores de tumores MDA-MB-436 se trataron dos veces al día con el vehículo 0,5% Metilcelulosa BID, PO o Ejemplo 1 mg/kg BID o 2 mg/kg QD, PO solo o en combinación con Niraparib 25 mg/kg QD, PO u Olaparib 100 mg/kg QD, PO durante 42 días.

El Ejemplo 1 a 1 mg/kg BID indujo una inhibición significativa pero modesta del crecimiento tumoral en monoterapia del 31% en comparación con el vehículo en el día 42 ($p=0,0371$) y niraparib solo a 25 mg/kg QD indujo una inhibición del crecimiento tumoral 76% ($p<0,0001$) y olaparib solo a dosis de 100 mg/kg QD indujo una inhibición del crecimiento

tumoral de 84% ($p < 0,0001$) en comparación con el vehículo en el día 42 (figura 5). Tanto la dosis BID de 1 mg/kg como la dosis QD de 2 mg/kg del Ejemplo 1 indujeron una diferencia estadísticamente significativa en el volumen tumoral en el día 42 en comparación con el vehículo (TGI %101 y %94, respectivamente con $p < 0,0001$) y también en comparación con niraparib ($p = 0,00233$) en el día 42. La dosificación BID de 1 mg/kg del Ejemplo 1 en combinación con olaparib indujo una diferencia significativa del volumen tumoral con un TGI de 96% en el día 42 en comparación con el vehículo ($p < 0,0001$) y olaparib ($p = 0,002$) (figura 5).

También se estudió la eficacia de la combinación del profármaco del Ejemplo 1 y niraparib en un modelo de xenoinjerto de línea celular de cáncer de ovario CDX PEO1 con deficiencia de recombinación homóloga (HR) (mutante de BRCA2) y en un PDX de cáncer de ovario 134-T con deficiencia de HR (mutante de BRCA1). En ambos estudios, la dosificación BID de 1 mg/kg del Ejemplo 1 en combinación con niraparib indujo una diferencia estadísticamente significativa en el volumen tumoral en comparación con el vehículo y en comparación con el niraparib.

10. Re-sensibilización de tumores PDX 134-T que progresan en Niraparib

Los animales portadores de tumores 134-T PDX se trataron con vehículo o con Niraparib 25 mg/kg QD. Los animales tratados con vehículo alcanzaron el volumen tumoral máximo permitido en el día 42 y el tratamiento con Niraparib progresó lentamente (figura 6). En el día 21, cuando el volumen tumoral medio alcanzó los 500 mm³, los animales tratados con Niraparib se aleatorizaron en tres grupos: un grupo siguió recibiendo Niraparib 25 mg/kg únicamente; el segundo grupo cambió al inhibidor de POLQ Ejemplo 1 a dosis de 1 mg/kg BID; y el tercer grupo recibió una combinación de Niraparib 25 mg/kg y Ejemplo 1 a dosis de 1 mg/kg BID. Los tumores que solo recibieron Niraparib progresaron más y alcanzaron un tamaño de ~1400 mm³ en el día 45, mientras que los brazos que recibieron el agente único Ejemplo 1 crecieron lentamente y alcanzaron los 945 mm³. Y el brazo de combinación con niraparib y Ejemplo 1 a 1 mg/kg BID controló significativamente la progresión de la enfermedad, con un volumen tumoral medio de 525 mm³. Estos datos sugieren que la inhibición de POLQ puede resensibilizar los tumores que progresan con inhibidores de PARP.

La eficacia de la combinación del Ejemplo 1 y niraparib se estudiará en modelos PDX de ovario resistentes a inhibidores de PARP. Ver Parmar et al, "The CHK1 Inhibitor Prexasertib Exhibits Monotherapy Activity in High-Grade Serous Ovarian Cancer Models and Sensitizes to PARP Inhibition", Clin Cancer Res; 25(20), 6127-6140 (2019).

11. Estudio de eficacia en modelo CDX con supresión de BRCA2 DLD1

Se estudió la eficacia del Compuesto A o Niraparib como monoterapias, así como de la combinación de Compuesto A y Niraparib, en el modelo DLD1 con supresión de BRCA2 (DLD1 BRCA2del). Además, los estudios examinaron la durabilidad y la tasa de respuesta de la combinación de Compuesto A y Niraparib. La eficacia de cada grupo de tratamiento se comparó con el grupo de control con vehículo o con Niraparib administrado solo a 35 mg/kg QD (una vez al día). Además, la eficacia de la respuesta al tratamiento para los grupos de combinación se comparó con Niraparib solo.

Las células DLD1 BRCA^{2del} se expandieron en RPMI con 10% de suero bovino fetal. El TV medio al inicio de la dosis fue de aproximadamente 148 mm³, con siete ratones aleatorizados a cada grupo de tratamiento. El estudio consistió en ocho grupos de tratamiento. Los grupos de tratamiento en el día 24 se compararon con el grupo de control en el día 24 para calcular el TGI. El compuesto A administrado a 3 mg/kg, 10 mg/kg o 30 mg/kg BID produjo -50%, -64% y -12% de TGI, respectivamente. Niraparib produjo -12% de TGI. La combinación de 35 mg/kg QD de niraparib y el compuesto A administrado a 3 mg/kg, 10 mg/kg o 30 mg/kg produjo un TGI medio de 112%, 111% y 117% de TGI respectivamente. Los grupos de monoterapia con vehículo, compuesto A y niraparib se terminaron en el día 24 y el estudio continuó para los grupos de combinación de compuesto A con niraparib. Todos los tratamientos se interrumpieron en el día 54, y el recrecimiento tumoral se evaluó hasta el día 122. Los grupos de combinación no progresaron fuera del tratamiento. Los grupos de combinación no progresaron fuera del tratamiento (vera figura 7). La combinación del Compuesto A con Niraparib enriqueció las respuestas completas y las regresiones tumorales, y la respuesta se mantuvo durante el periodo de observación.

12. Estudio de eficacia en el modelo de xenoinjerto de línea celular humana deficiente en HR MDA-MB-436

El efecto del Ejemplo 1 sobre el crecimiento tumoral in vivo se evaluó en ratones hembra NOD SCID, de 6-8 semanas de edad, portadores del modelo MDA-MB-436 CDX mutante BRCA1.

Se asignaron diez ratones a cada grupo de tratamiento dentro del estudio de eficacia. El estudio consistió en cuatro grupos de tratamiento. Los ratones se trataron por vía oral con Vehículo A, BID (el vehículo para el ejemplo 1; 1% 400 cps metilcelulosa en agua estéril) y Vehículo B, QD, (el vehículo para niraparib, 0,5% 400 cps metilcelulosa en agua estéril)

(Grupo 1), Ejemplo 1 a 1 mg/kg BID (Grupo 2), niraparib a 25 mg/kg QD (Grupo 3), y niraparib a 25 mg/kg QD en combinación con el Ejemplo 1 a 1 mg/kg BID (Grupo 4).

La duración para el vehículo y el grupo de tratamiento del Ejemplo 1 fue de 29 días o antes si se cumplían los criterios de valoración de TV. El criterio de valoración de TV para los grupos de tratamiento individuales se definió como el 50% de los ratones dentro del grupo de tratamiento que actual o previamente contenían tumores de más de 2000 mm³. Si un ratón individual alcanzaba el criterio de valoración antes que el grupo, se sometió a eutanasia, y el resto de los ratones continuó hasta que se alcanzó el criterio de valoración para el grupo.

El grupo de control con vehículo alcanzó el criterio de valoración de TV el día 29 del estudio, y el día 30 se sometieron a eutanasia los grupos 1 y 2. El estudio continuó para los grupos 3 y 4 hasta el día 78 del estudio. La figura 8 presenta el TV medio, que solo incluye los ratones que permanecieron en el estudio en los días de medición. Los ratones se sometieron a eutanasia cuando alcanzaron el criterio de valoración de TV, o en el día 78, lo que ocurriera primero. No se observó una pérdida significativa de peso corporal en ningún momento del estudio.

En comparación con el grupo del vehículo, cada grupo de tratamiento produjo un TGI estadísticamente significativo. El Ejemplo 1, el niraparib y la combinación produjeron 35%, 79% y 88% de TGI, respectivamente. En el día 78, se comparó la eficacia de la combinación del Ejemplo 1 y niraparib con la del niraparib solo. La combinación de niraparib y el Ejemplo 1 produjo un TV medio de 23,7 mm³ y todos los tumores respondieron con regresiones tumorales de $\geq 100\%$. Además de la regresión tumoral, también se observaron respuestas completas en el 70% de los ratones.

13. Estudio de eficacia en la progresión de tumores PDX ováricos 031-T con Niraparib

Se realizó un estudio de eficacia in vivo utilizando un modelo de xenoinjerto derivado de paciente (PDX) con carcinoma de ovario 031-T con deficiencia de RH (mutación sin sentido de BRCA1) y progresión con carboplatino.

A ratones hembra NOD SCID gamma (NSG) se les implantaron fragmentos de 4 mm x 4 mm del modelo PDX de cáncer de ovario 031-T con deficiencia de RH (mutación BRCA1) y, cuando el volumen tumoral medio llegó a alrededor de 100 mm³, los animales se aleatorizaron y trataron con vehículo o con niraparib (35 mg/kg QD). Los tumores no

respondieron a niraparib 35 mg/kg QD y progresaron en 27 días. En el día 27, cuando el volumen tumoral medio alcanzó los 500 mm³, los animales tratados con niraparib se aleatorizaron en dos grupos: un grupo siguió recibiendo solo niraparib 35 mg/kg, QD; el segundo grupo recibió una combinación de niraparib 35 mg/kg, QD y el Ejemplo 1 en dosis de 1 mg/kg BID (n=4). Tanto los tumores que recibieron vehículo como los que solo recibieron Niraparib también progresaron y alcanzaron un tamaño de ~2000 mm³ en el día 59, mientras que el brazo de combinación con niraparib y el Ejemplo 1 a 1 mg/kg BID retrasó significativamente la progresión de la enfermedad, con un volumen tumoral medio de 230 mm³ (TGI 123% en comparación con el día 27, con una regresión tumoral del 27%) (figura 9). Estos datos sugieren que la adición del inhibidor de POLQ retrasa la progresión tumoral con inhibidores de PARP, mientras que la monoterapia con niraparib produce un crecimiento tumoral continuo.

En la presente se describen modalidades particulares de esta invención, que incluyen el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Al leer la descripción anterior, las variaciones de las modalidades descritas pueden resultar evidentes para las personas que trabajan en la técnica, y se espera que los profesionales expertos puedan emplear tales variaciones según corresponda. En consecuencia, se pretende que la invención se practique de forma distinta a como se describe específicamente en la presente, y que la invención incluya todas las modificaciones y equivalentes del tema mencionado en las reivindicaciones adjuntas al presente documento según lo permitido por la ley aplicable. Además, la invención abarca cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas sus posibles variaciones, a menos que se indique lo contrario en la presente o se contradiga claramente por el contexto.

Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, números de acceso y otras referencias citadas en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente por referencia como si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente que se incorpora por referencia.