

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 876**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 409/14 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08798064 .5**

96 Fecha de presentación: **18.08.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2190836**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.06.2010**

54

Título: **DERIVADOS DE 2-HETEROARILAMINOPIRIMIDINA COMO INHIBIDORES DE CINASA.**

30

Prioridad:
22.08.2007 US 957240 P

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.11.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.11.2011

73

Titular/es:
**IRM LLC
131 FRONT STREET PO BOX HM 2899
HAMILTON HM LX, BM**

72

Inventor/es:
**CHIANELLI, Donatella;
MOLTENI, Valentina;
LI, Xiaolin;
LIU, Xiaodong;
NABAKKA, Juliet y
LOREN, Jon**

74

Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 368 876 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de 2-heteroarilaminopirimidina como inhibidores de cinasa

5 Campo técnico

[0001] La invención se refiere a inhibidores de proteína cinasa y a procedimientos de uso de dichos compuestos. Más particularmente, la invención se refiere a inhibidores de c-kit y PDGFR y a usos de los mismos para el tratamiento y la prevención de trastornos mediados por c-kit y PDGFR.

10

Antecedentes de la técnica

[0002] Las proteína cinasas representan una gran familia de proteínas que desempeña un papel básico en la regulación de una amplia variedad de procesos celulares y el mantenimiento del control sobre la función celular. Una lista parcial no limitante de estas cinasas incluye: tirosina cinasas receptoras tales como cinasa receptora de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), cinasa receptora de factor de blastocitos, c-kit, receptora de factor de crecimiento nervioso, trkB, y receptora de factor de crecimiento de fibroblastos, FGFR3; tirosina cinasas no receptoras tales como Abl y la cinasa de fusión BCR-Abl, Fes, Lck y Syk; y serina/treonina cinasas tales como b-RAF, MAP cinasas (por ejemplo, MKK6) y SAPK2β. Se ha observado actividad cinasa aberrante en muchos estados patológicos, incluyendo trastornos proliferativos benignos y malignos, así como enfermedades resultantes de una activación inapropiada de los sistemas inmunitario y nervioso.

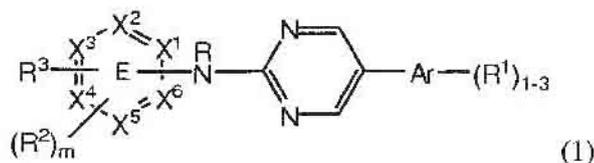
15

20

Divulgación de la invención

[0003] Esta invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos que pueden ser útiles como inhibidores de proteína cinasa.

[0004] En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula Formula (1):



30

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en la que 1-4 X¹, X², X³, X⁴, X⁵ y X⁶ son N y los otros son CR³, y el anillo E está unido a NR, R² y R³ por un átomo de carbono;

35

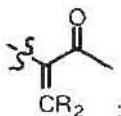
Ar es un arilo o heteroarilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido, a condición de que Ar no sea imidazolilo;

R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con grupos halógeno, amino o hidroxilo; halógeno, ciano, nitro, (CR₂)_kOR⁷, (CR₂)_kO(CR₂)₁₋₄R⁷, (CR₂)_kSR⁷, (CR₂)_kNR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, OC(O)R⁷, (CR₂)_kC(S)R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸, (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kR⁶ o dos grupos R₂ adyacentes cualquiera junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un anillo arilo o heteroarilo carbocíclico o heterocíclico de 5-8 miembros opcionalmente sustituido;

40

R³ es -L-NR⁴R⁵, -X-NR-C(O)R⁸ o -X-NR-C(O)NR⁴R⁵, en los que L es -X-C(O), -X-OC(O), -SO₀₋₂(CR₂)_j, (CR₂)₁₋₄, -O(CR₂)₁₋₄, o

45



50

y X es (CR₂)_j o [C(R)(CR₂OR)];

R⁴, R⁵, R⁹ y R¹⁰ son independientemente H; alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; (CR₂)_kCN, (CR₂)₁₋₆NR⁷R⁷, (CR₂)₁₋₆OR⁷, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷ o (CR₂)_k-R⁶;

5 R⁶ es un cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ o un anillo heteroarílico de 5-10 miembros o heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido;

10 R⁷ y R⁸ son independientemente (CR₂)_k-R⁶ o alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, amido, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; o R⁷ es H;

15 como alternativa, R⁴ y R⁵ junto con N en cada NR⁴R⁵, R⁷ y R⁷ junto con N en NR⁷R⁷ o R⁹ y R¹⁰ junto con N en NR⁹R¹⁰ pueden formar un anillo heterocíclico de 4-7 miembros opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R¹¹ y que contiene opcionalmente NR¹², O, S, =O o un doble enlace;

R¹¹ es R⁸, (CR₂)_k-OR⁷, CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁸, (R₂)_k(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

20 R¹² es H, R⁸, -(CR₂)₁₋₄CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁸, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)₁₋₄NRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

cada R es H o alquilo C₁₋₆;

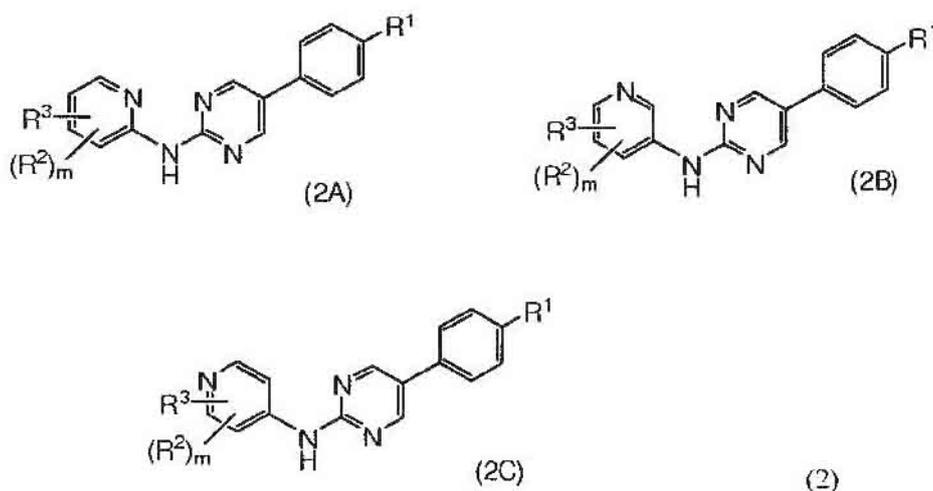
25 cada k es 0-6;

j y m son independientemente 0-4;

a condición de que R⁸ en -X-NR-C(O)R⁸ no sea fenilo cuando Ar es fenilo y X es (CR₂)₀.

30 **[0005]** En algunos ejemplos, el anillo E en la fórmula (1) anterior es piridinilo. En otros ejemplos, Ar es fenilo. En aún otros ejemplos, R² si está presente es halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, hidroxilo o CO₂R⁷ y R⁷ es H o alquilo C₁₋₆. En otros ejemplos, R³ es -L-NR⁴R⁵, -X-NR-C(O)R⁸ o -X-NR-C(O)NR⁴R⁵; L es -X-C(O); X es (CR₂)_j y j es 0.

35 **[0006]** En una realización, la invención proporciona compuestos de fórmulas (2A), (2B) o (2C):



40 en las que R¹ es alcoxilo C₁₋₆ o un halogenoalquilo que tiene 1-6 átomos de flúor;

R² si está presente es alquilo C₁₋₆;

R^3 es $-L-NR^4R^5$, $-X-NR-C(O)R^8$ o $-X-NR-C(O)NR^4R^5$;

L es $-X-C(O)$;

5

X es $(CR_2)_j$;

R^4 y R^5 son independientemente H; alquilo C_{1-6} , alqueniilo C_{2-6} o alquiniilo C_{2-6} , cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R^6 ; o R^4 y R^5 junto con N forman piperazinilo, pirrolidinilo o piperidinilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con $=O$ o 1-2 grupos R^{11} ;

10

j es 0;

k es 0-4;

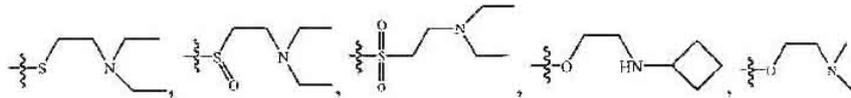
15

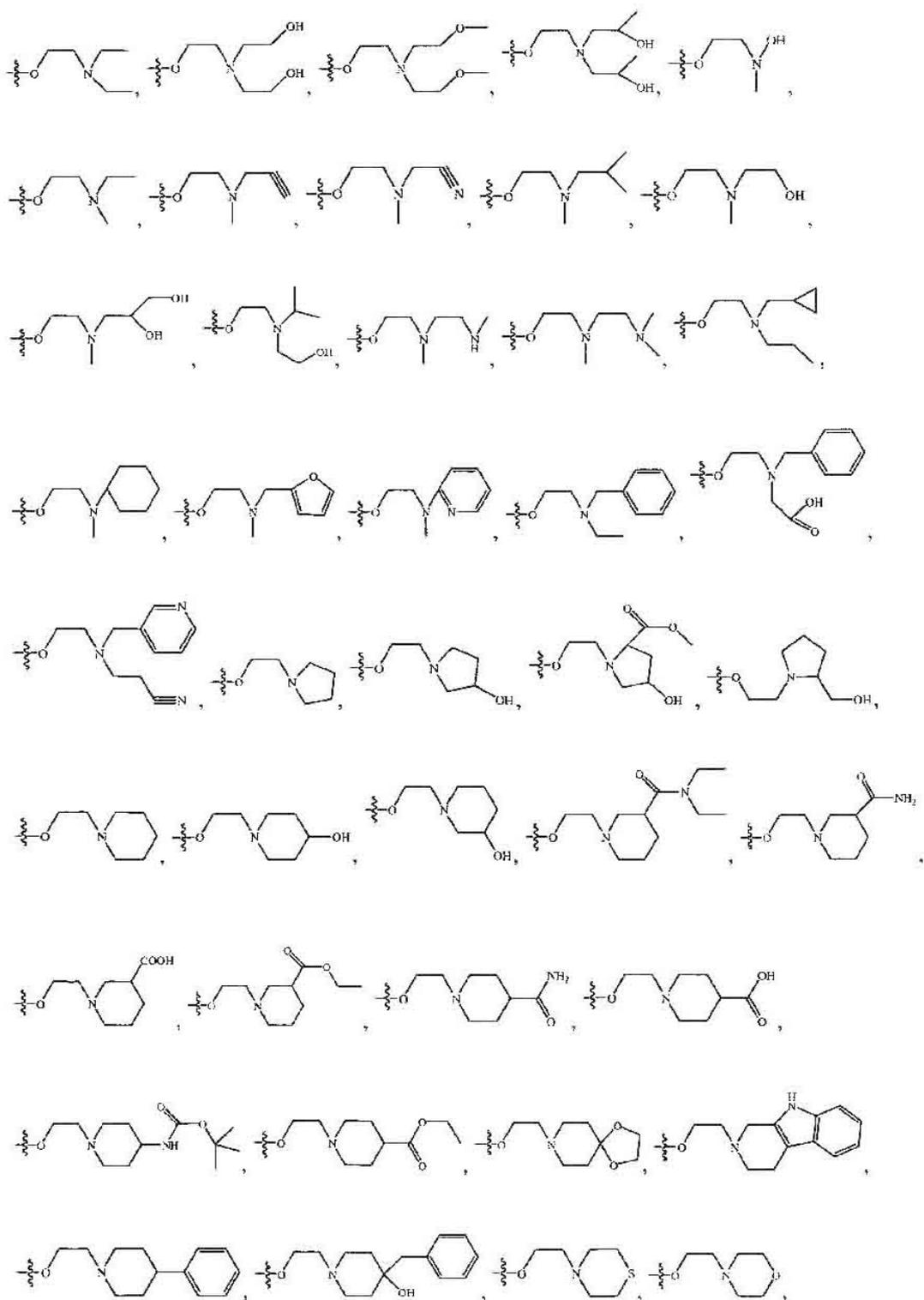
m es 0-1; y

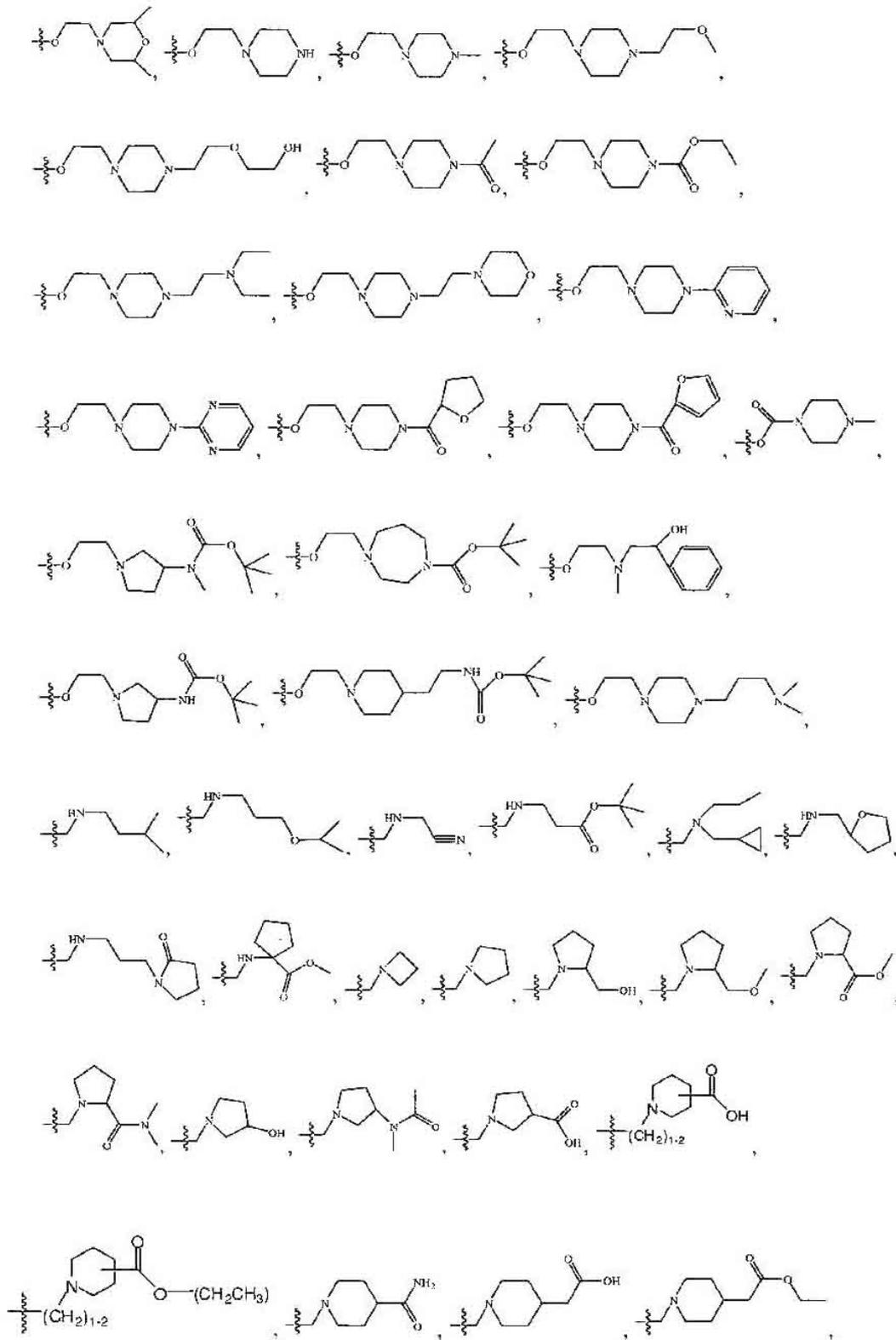
R , R^6 , R^8 y R^{11} son como se definen en la fórmula (1).

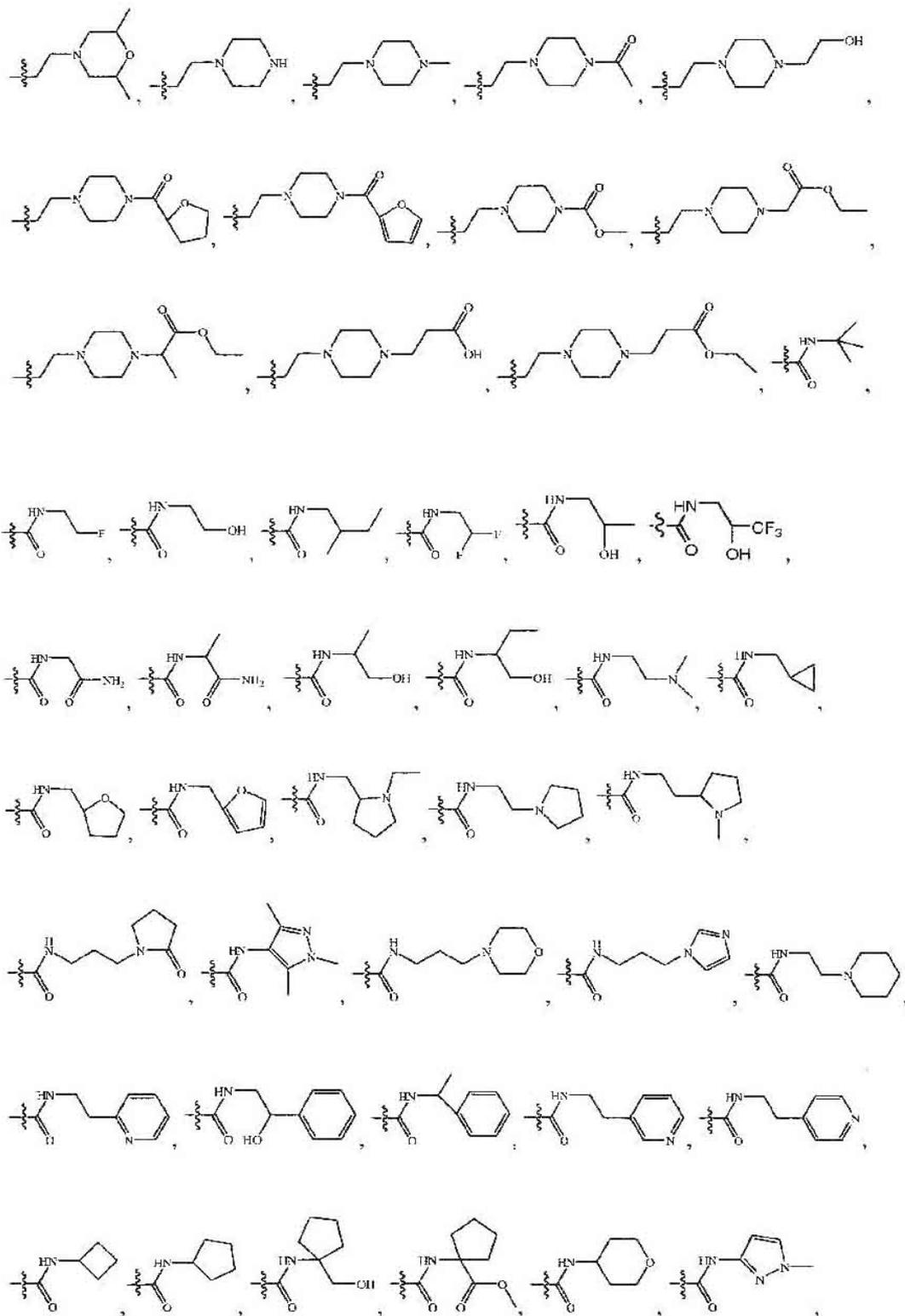
20 **[0007]** En las fórmulas (1), (2A), (2B) y (2C) anteriores, R^1 puede ser alcoxilo C_{1-6} o un haloalquilo que tiene 1-6 átomos de flúor. Por ejemplo, R^1 puede ser OCH_3 , $OCHF_2$, OCF_3 , OCH_2CF_3 , OCF_2CH_3 o OCH_2CF_3 .

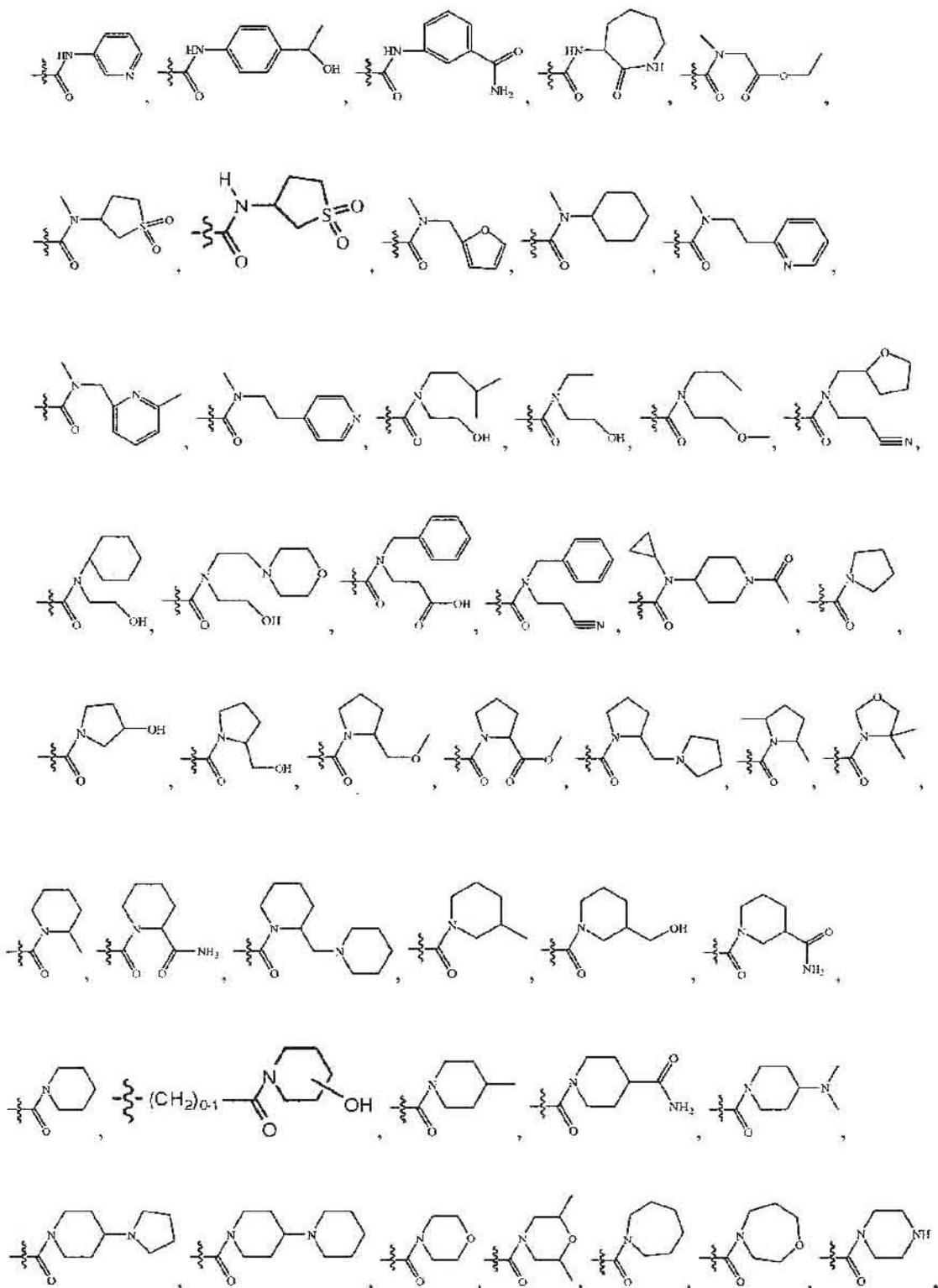
[0008] En las fórmulas (1), (2A), (2B) y (2C) anteriores, R^3 se selecciona del grupo constituido por

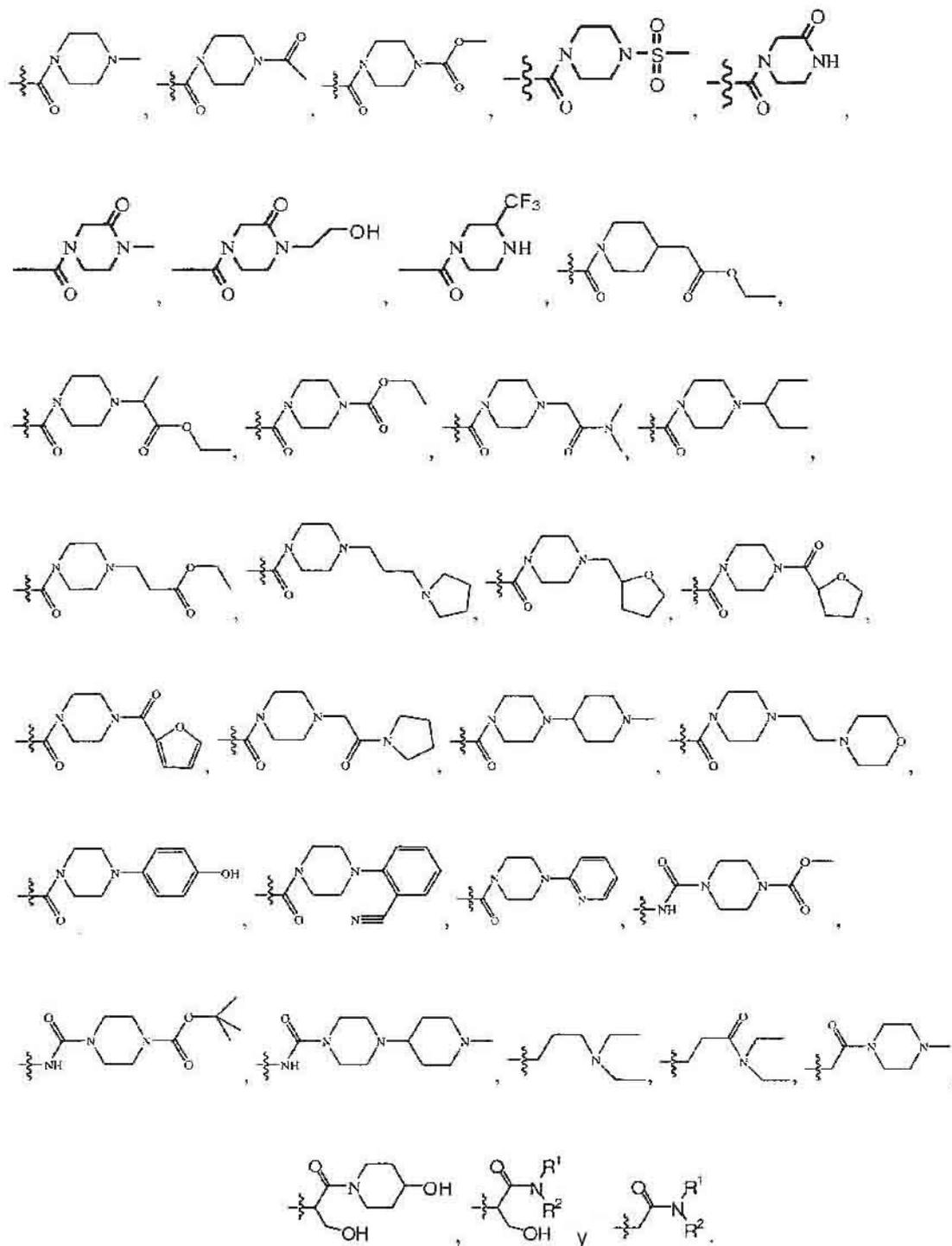






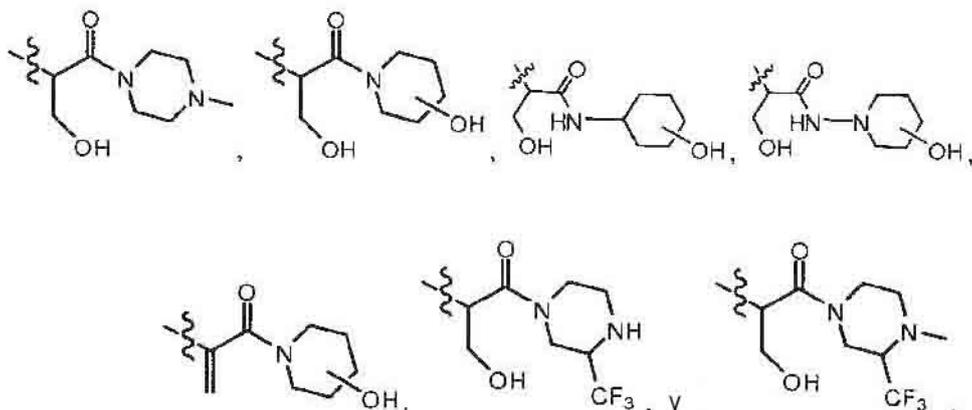






[0009] En otros ejemplos, R³ en las fórmulas (1), (2A), (2B) y (2C) anteriores se selecciona del grupo constituido por

5



[0011] En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0012] En aún otro aspecto, la presente invención describe procedimientos para modular la actividad cinasa que comprenden administrar a un sistema o sujeto necesitado de ello una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), o sales o composiciones farmacéuticas farmacéuticamente aceptables del mismo, modulando así dicha actividad cinasa.

[0013] En una realización, la invención describe procedimientos para modular las cinasas c-kit, PDGFR α , PDGFR β , CSF1R, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGF β , SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2 β , BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf. En realizaciones particulares, la invención describe procedimientos para modular c-kit, PDGFR α o PDGFR β ; y más particularmente, la invención describe procedimientos en los que puede ponerse directamente en contacto un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), o sales o composiciones farmacéuticas farmacéuticamente aceptables del mismo, con c-kit, PDGFR α o PDGFR β *in vitro* o *in vivo*.

[0014] Se describen también en la presente memoria procedimientos para tratar una enfermedad o afección en los que la modulación de la actividad cinasa puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de la enfermedad o afección, que comprenden administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), o sales o composiciones farmacéuticas farmacéuticamente aceptables del mismo, y opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico. Los ejemplos de agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con un compuesto de la invención incluyen, pero sin limitación, un agente antifibrótico, pirfenidona, tacrolímús, un agente antiinflamatorio, un corticosteroide, una cromolina, un antagonista de leucotrieno, un bloqueante de IgE, un broncodilatador, un agonista de β_2 , xantinas, un anticolinérgico o un agente quimioterapéutico. Cuando se administra con un segundo agente terapéutico, el compuesto de fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), o sales o composiciones farmacéuticas farmacéuticamente aceptables del mismo, puede administrarse antes, simultáneamente o después del segundo agente terapéutico.

[0015] Se describen también en la presente memoria procedimientos para tratar una enfermedad o afección modulada por las cinasas c-kit, PDGFR α , PDGFR β , CSF1R, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGF β , SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2 β , BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf. En ejemplos particulares, se describen en la presente memoria procedimientos para tratar una enfermedad o afección modulada por PDGFR α , PDGFR β o c-kit. En algunos ejemplos, se describen en la presente memoria procedimientos para tratar una enfermedad o afección modulada por c-kit.

[0016] Los ejemplos de enfermedades o afecciones mediadas por cinasa que pueden medirse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, una enfermedad asociada a mastocitos, un trastorno de alergia, el síndrome del intestino irritable (SII), una enfermedad fibrótica, un trastorno neoplásico, un trastorno inflamatorio, un trastorno autoinmunitario, una enfermedad de injerto contra el hospedador, un síndrome metabólico, un trastorno relacionado con el SNC, un estado doloroso, un trastorno por abuso de sustancias, un cáncer, una enfermedad cardiovascular y una enfermedad priónica.

[0017] Los ejemplos de enfermedad asociada a mastocitos que puede tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, trastornos alérgicos (incluyendo asma y dermatitis atópica), urticaria, acné y acné por *Propionibacterium*, fibrodisplasia osificante progresiva (FOP), inflamación y destrucción de tejido inducidas por la exposición a armas químicas o biológicas (tales como carbunco y mostaza sulfurada, fibrosis quística; enfermedad renal, trastornos musculares inflamatorios, VIH, diabetes de tipo II, diabetes,

isquemia cerebral, mastocitosis, síndromes de dependencia y abstinencia de fármacos, trastornos del SNC, prevención y minimización de la caída del cabello, infecciones bacterianas, cistitis intersticial, enfermedades intestinales inflamatorias (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis indeterminada y colitis infecciosa), angiogénesis tumoral, enfermedades autoinmunitarias, esclerosis múltiple (EM) y pérdida ósea.

5

[0018] Los ejemplos de trastornos alérgicos que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, sinusitis alérgica, síndrome anafiláctico, urticaria, angioedema, dermatitis de contacto alérgica, eritema nodular, eritema multiforme, venulitis necrosante cutánea, inflamación de la piel por picadura de insecto e infestación por parásitos chupadores de sangre.

10

[0019] El síndrome del intestino irritable (SII) es un trastorno gastrointestinal funcional caracterizado por dolor abdominal y un hábito intestinal alterado. El dolor se alivia característicamente por la defecación y puede estar asociado con un aumento o reducción de la frecuencia de las heces, alteraciones en la consistencia de las heces, esfuerzo o urgencia, una sensación de evacuación incompleta, el paso de moco o distensión abdominal.

15

[0020] Una enfermedad fibrótica como se usa en la presente memoria comprende todas las afecciones ligadas con o asociadas a la formación y deposición de componentes de matriz extracelular, particularmente en los órganos internos, incluyendo los riñones, corazón, pulmones, hígado, piel y articulaciones. Los ejemplos de enfermedades fibróticas que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), hipertensión pulmonar primaria (por ejemplo, hipertensión arterial pulmonar (HAP)), fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis cardíaca, cirrosis hepática, fibrosis de médula ósea, hepatitis C (HCV) y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

20

[0021] Los ejemplos de trastornos neoplásicos que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, mastocitosis, tumor estromal gastrointestinal, carcinoma pulmonar microcítico, carcinoma pulmonar no microcítico, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena crónica, carcinoma colorrectal, carcinoma gástrico, cáncer testicular, glioblastoma y astrocitoma.

25

[0022] Los ejemplos de trastornos inflamatorios que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, artritis reumatoide, conjuntivitis, espondilitis reumatoide, osteoartritis y artritis gotosa.

30

[0023] Los ejemplos de trastornos autoinmunitarios que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, esclerosis múltiple, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, poliartritis, esclerodermia local o sistémica, lupus sistémico eritematoso, lupus eritematoso discoide, lupus cutáneo, dermatomiositis, polimiositis, síndrome de Sjogren, panarteritis nodular, enteropatía autoinmunitaria y glomerulonefritis proliferativa.

35

[0024] Los ejemplos de enfermedades del injerto contra el hospedador que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, rechazo de trasplantes de órgano, tal como trasplante de riñón, trasplante de páncreas, trasplante de hígado, trasplante de corazón, trasplante de pulmón y trasplante de médula ósea.

40

[0025] Los ejemplos de síndrome metabólico que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, diabetes de tipo I, diabetes de tipo II y obesidad.

45

[0026] Los ejemplos de trastornos relacionados con el SNC que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, depresión, trastorno distímico, trastorno ciclotímico, anorexia, bulimia, síndrome premenstrual, síndrome postmenopáusico, retardo mental, pérdida de concentración, preocupación pesimista, agitación, autoautoflagelación y libido reducida, un trastorno de ansiedad, un trastorno psiquiátrico y esquizofrenia.

50

[0027] Los ejemplos de afecciones depresivas que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, depresión bipolar, depresión grave o melancólica, depresión atípica, depresión refractaria y depresión estacional. Los ejemplos de trastornos de ansiedad que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, ansiedad asociada a hiperventilación y arritmias cardíacas, trastornos fóbicos, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de estrés agudo y trastorno de ansiedad generalizado. Los ejemplos de trastornos psiquiátricos que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, ataques de pánico, incluyendo psicosis, trastornos ilusorios, trastornos de conversión, fobias, manía, delirio, episodios disociativos incluyendo amnesia disociativa, fuga disociativa y comportamiento suicida disociativo, dejadez, comportamiento violento o agresivo, trauma, trastorno límite de la personalidad y psicosis aguda tales como esquizofrenia, incluyendo esquizofrenia paranoide, esquizofrenia desorganizada, esquizofrenia catatónica y esquizofrenia indiferenciada.

55

60

65

[0028] Los ejemplos de trastornos neurodegenerativos que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, osteoartritis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedades priónicas, enfermedad de las motoneuronas (EMN) y esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

5

[0029] Los ejemplos de estados dolorosos que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, dolor agudo, dolor postoperatorio, dolor crónico, dolor nociceptivo, dolor de cáncer, dolor neuropático y síndrome del dolor psicogénico.

10 **[0030]** Los ejemplos de trastornos por uso de sustancias que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, adicción a fármacos, abuso de fármacos, habituación a fármacos, dependencia de fármacos, síndrome de abstinencia y sobredosis.

15 **[0031]** Los ejemplos de cánceres que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, glioma, melanoma, tumor estromal gastrointestinal (TEG), carcinoma pulmonar microcítico, cáncer colorrectal y otros tumores sólidos.

20 **[0032]** Los ejemplos de enfermedades cardiovasculares que pueden tratarse usando los compuestos y composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, angina de pecho, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiomiopatía, hipertensión, estenosis arterial y estenosis venosa.

25 **[0033]** Más particularmente, los compuestos de la invención pueden usarse para el tratamiento y la prevención de asma, dermatitis atópica, urticaria, síndrome del intestino irritable (SII) o una enfermedad fibrótica, incluyendo pero sin limitación, esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), hipertensión pulmonar primaria (HPP), hipertensión arterial pulmonar primaria (HAPP), hipertensión arterial idiopática (HAI), fibrosis hepática, fibrosis renal y fibrosis cardíaca.

30 **[0034]** Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C), o una composición farmacéutica del mismo, y opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección modulada por las cinasas c-kit, PDGFR α , PDGFR β , CSF1R, Abl, BCRAbl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGF β , SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2 β , BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf, y más particularmente, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección modulada por PDGFR α , PDGFR β o c-kit.

35 **[0035]** En los procedimientos anteriores para usar los compuestos de la invención, puede administrarse un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C) a un sistema que comprende células o tejidos. En otras realizaciones, puede administrarse un compuesto que tiene las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C) a un sujeto humano o animal.

40 Definiciones

45 **[0036]** “Alquilo” designa un resto y un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo y alcoxilo halogenosustituídos, y puede ser de cadena lineal o ramificada. Un alquilo, alquenoilo o alquinoilo opcionalmente sustituido como se usa en la presente memoria puede estar opcionalmente halogenado (por ejemplo, CF₃) o puede tener uno o más carbonos que están sustituidos o reemplazados por un heteroátomo, tal como NR, O o S (por ejemplo, -OCH₂CH₂O-, alquiltioles, tioalcoxilos, alquilaminas, etc.).

50 **[0037]** “Ariilo” designa un anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene átomos de carbono. Por ejemplo, ariilo puede ser fenilo o naftilo. “Ariileno” significa un radical divalente derivado de un grupo ariilo.

55 **[0038]** “Heteroarilo” como se usa en la presente memoria es como se define para ariilo anteriormente, en que uno o más de los miembros de anillo son un heteroátomo. Los ejemplos de heteroarilos incluyen, pero sin limitación, piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzofuranilo, benzopiranilo, benzotiopiranilo, benzo[1,3]dioxolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

60 **[0039]** Un “anillo carbocíclico” como se usa en la presente memoria designa un anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclico fusionado o policíclico con puente que contiene átomos de carbono, que puede estar opcionalmente sustituido, por ejemplo, con =O. Los ejemplos de anillos carbocíclicos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopropileno, ciclohexanona, etc.

65 **[0040]** Un “anillo heterocíclico” como se usa en la presente memoria es como se define un anillo carbocíclico anteriormente, en el que uno o más átomos de anillo son un heteroátomo. Por ejemplo, un anillo heterocíclico puede contener N, O, S, -N=, -S-, -S(O), -S(O)₂- o -NR-, en el que R puede ser hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o un grupo protector. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero sin limitación, morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]dec-8-ilo, etc.

[0041] Como se usa en la presente memoria, un átomo de H en cualquier grupo sustituyente (por ejemplo, CH₂) comprende todas las variaciones isotópicas adecuadas, por ejemplo, H, ²H y ³H.

5 **[0042]** A menos que se indique otra cosa, cuando un sustituyente se considera que está “opcionalmente sustituido”, se pretende que el sustituyente sea un grupo que puede estar sustituido con uno o más grupos individual e independientemente seleccionados, por ejemplo, de un alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxilo, alquilamina, alquiltio, alquinilo, amida, amino opcionalmente halogenados, incluyendo grupos amino mono- y disustituidos, arilo, ariloxilo, ariltio, carbonilo, carbociclo, ciano, cicloalquilo, halógeno, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, heteroarilo, heterociclo, hidroxilo, isocianato, isotiocianato, mercapto, nitro, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, S-sulfonamido, N-sulfonamido, C-carboxilo, O-carboxilo, perhaloalquilo, perfluoroalquilo, sililo, sulfonilo, tiocarbonilo, tiocianato, trihalogenometanosulfonilo y los compuestos protegidos de los mismos. Los grupos protectores que pueden formar los compuestos protegidos de los sustituyentes anteriores son conocidos por los especialistas en la materia y pueden encontrarse en referencias tales como Greene and Wuts, 15 “Protective Groups in Organic Synthesis”, 3^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999 y Kocienski, “Protective Groups”, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994, que se incorporan a la presente memoria como referencia en su totalidad.

[0043] Los términos “coadministración” o “administración combinada” o similares como se usan en la presente memoria se pretende que comprendan la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y se entiende que incluyen regímenes de tratamiento en que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

[0044] El término “combinación farmacéutica” como se usa en la presente memoria designa un producto obtenido mezclando o combinando ingredientes activos, e incluye tanto combinaciones fijas como no fijas de los ingredientes activos. El término “combinación fija” significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de fórmula (1) y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una sola entidad o dosificación. El término “combinación no fija” significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de fórmula (1) y un coagente, se administran ambos a un paciente en forma de entidades separadas, simultánea, 30 concurrente o secuencialmente sin límites temporales específicos, en el que dicha administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los ingredientes activos en el cuerpo del paciente. Esto último se aplica también a la terapia de tipo cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más ingredientes activos.

[0045] El término “cantidad terapéuticamente eficaz” significa la cantidad del compuesto en cuestión que desencadenará una respuesta biológica o médica en una célula, tejido, órgano, sistema, animal o ser humano que se busca por el investigador, veterinario, médico u otro facultativo.

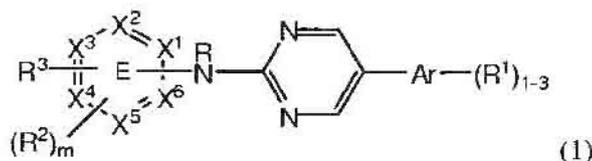
[0046] El término “administración” o “administrar” el compuesto en cuestión significa proporcionar un compuesto de la invención y profármacos del mismo a un sujeto necesitado de tratamiento.

40 **[0047]** A menos que se indique otra cosa, para esta invención, una cinasa seleccionada de c-kit, PDGFR α , PDGFR β , CSF1R, Abl, BCRAbl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGF β , SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2 β , BRK, Fms, KDR, c-raf y b-raf designa las formas naturales y mutantes (concretamente, que tienen cambios aminoacídicos únicos o múltiples de la secuencia natural).

45 Modos de llevar a cabo la invención

[0048] La presente invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos que pueden ser útiles como inhibidores de proteína cinasa.

50 **[0049]** En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (1):



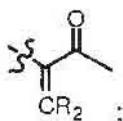
55 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que 1-4 X¹, X², X³, X⁴, X⁵ y X⁶ son N y los otros son CR³, y el anillo E está unido a NR, R² y R³ por un átomo de carbono;

Ar es un arilo o heteroarilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido a condición de que Ar no sea imidazolilo;

R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar
 5 opcionalmente sustituido con grupos halógeno, amino o hidroxilo; halógeno, nitro, (CR₂)_kOR⁷, (CR₂)_kO(CR₂)₁₋₄R⁷,
 (CR₂)_kSR⁷, (CR₂)_kNR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, OC(O)R⁷, (CR₂)_kC(S)R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆
 C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸, (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kR⁶; o dos
 10 grupos R² adyacentes cualquiera junto con los átomos a que están unidos pueden formar un anillo carbocíclico,
 heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5-8 miembros opcionalmente sustituido;

R³ es -L-NR⁴R⁵, -X-NR-C(O)R⁸ o -X-NR-C(O)NR⁴R⁵ en el que L es -X-C(O), -X-OC(O), -SO₀₋₂(CR₂)_j, (CR₂)₁₋₄, -
 O(CR₂)₁₋₄, o



15 y X es (CR₂)_j o [C(R)(CR₂OR)];

R⁴, R⁵, R⁹ y R¹⁰ son independientemente H; alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede
 20 estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; (CR₂)_kCN, (CR₂)₁₋₆
 NR⁷R⁷, (CR₂)₁₋₆OR⁷, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷ o (CR₂)_k-R⁶;

R⁶ es un anillo cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros o heterocíclico de 5-7 miembros
 opcionalmente sustituidos;

25 R⁷ y R⁸ son independientemente (CR₂)_k-R⁶ o alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales
 puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, amido, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; o R⁷ es
 H;

como alternativa, R⁴ y R⁵ junto con N en cada NR⁴R⁵, R⁷ y R⁷ junto con N en NR⁷R⁷ o R⁹ y R¹⁰ junto con N en
 30 NR⁹R¹⁰, pueden formar un anillo heterocíclico de 4-7 miembros opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R¹¹ y que
 contiene opcionalmente NR¹², O, S, =O o un doble enlace;

R¹¹ es R⁸, (CR₂)_k-OR⁷, CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁸, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷,
 (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

35 R¹² es H, R⁸, -(CR₂)₁₋₄CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁸, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)₁₋₄
 NRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

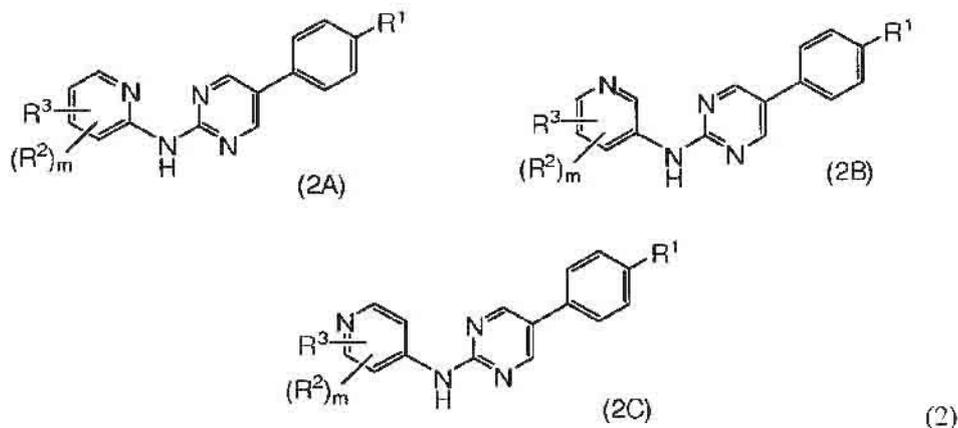
cada R es H o alquilo C₁₋₆;

40 cada k es 0-6;

j y m son independientemente 0-4;

45 a condición de que R⁸ en -X-NR-C(O)R⁸ no sea fenilo cuando Ar es fenilo y X es (CR₂)₀.

[0050] En una realización, la invención proporciona compuestos de fórmulas (2A), (2B) o (2C):



en las que R^1 es alcoxilo C_{1-6} o un halogenoalquilo que tiene 1-6 átomos de flúor;

5 R^2 si está presente es alquilo C_{1-6} ;

R^3 es $-L-NR^4R^5$, $-X-NR-C(O)R^8$ o $-X-NR-C(O)NR^4R^5$;

L es $-X-C(O)$;

10

X es $(CR_2)_j$;

R^4 y R^5 son independientemente H; alquilo C_{1-6} , alqueniilo C_{2-6} o alquinilo C_{2-6} , cada uno de los cuales puede estar
 15 opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R^6 ; o R^4 y R^5 junto con N forman piperazinilo, pirrolidinilo o piperidinilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con $=O$ o 1-2 grupos R^{11} ;

j es 0;

k es 0-4;

20

m es 0-1; y

R, R^6 , R^8 y R^{11} se definen como en la fórmula (1).

25 **[0051]** En cada una de las fórmulas anteriores, puede estar presente cualquier átomo de carbono asimétrico en la configuración (R), (S) o (R,S). Los compuestos pueden estar presentes por tanto como mezclas de isómeros o isómeros puros, por ejemplo, como enantiómeros o diastereómeros puros. La invención comprende adicionalmente los posibles tautómeros de los compuestos de la invención.

30 **[0052]** La presente invención incluye también todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Una variación isotópica de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como aquella en que se reemplaza al menos un átomo por otro átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica encontrada habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los
 35 compuestos de la invención y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos incluyen, pero sin limitación, isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno tales como 2H , 3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl y ^{123}I . Ciertas variaciones isotópicas de los compuestos de la invención y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo aquellas en que se incorpora un isótopo radiactivo tal como 3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución en tejido de fármaco y/o sustrato.

40

[0053] En ejemplos particulares, pueden usarse los isótopos 2H , 3H y ^{14}C por su facilidad de preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isótopos tales como 2H puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de su mayor estabilidad isotópica, tales como una semivida in vivo aumentada o unos requisitos de dosificación reducidos. Las variaciones isotópicas de los compuestos de la invención o las sales
 45 farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden prepararse generalmente mediante procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados. Las variaciones isotópicas de los compuestos tienen el potencial de cambiar el destino metabólico de un compuesto y/o de crear pequeños cambios en las propiedades físicas tales como hidrofobicidad y similares. La variación isotópica tiene el potencial de potenciar la eficacia y seguridad, potenciar la biodisponibilidad y semivida, alterar la unión de proteína, cambiar la

biodistribución, aumentar la proporción de metabolitos activos y/o reducir la formación de metabolitos reactivos o tóxicos.

[0054] En cada una de las fórmulas anteriores, cada resto opcionalmente sustituido puede estar sustituido con alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₃₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente halogenado o tener opcionalmente un carbono que puede reemplazarse con o sustituirse por N, S, O o una combinación de los mismos (por ejemplo, hidroxialquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈-alquilo C₁₋₈); halógeno, amino, amidino, alcoxi C₁₋₆; hidroxilo, metilendioxilo, carboxilo; alquil C₁₋₈-carbonilo, alcoxi C₁₋₈-carbonilo, carbamoilo, alquil C₁₋₈-carbamoilo, sulfamoilo, ciano, oxo, nitro o un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido como se describe anteriormente.

[0055] Los compuestos que tienen las fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable pueden exhibir propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo, como se indica en los ensayos *in vitro* descritos en esta solicitud. El valor de CI₅₀ en esos experimentos se da como la concentración del compuesto de ensayo en cuestión que da como resultado un recuento celular que es un 50% menor que el obtenido usando el control sin inhibidor. En general, los compuestos de la invención tienen valores de CI₅₀ de 1 nM a 10 µM. En algunos ejemplos, los compuestos de la invención tienen valores de CI₅₀ de 0,01 µM a 5 µM. En otros ejemplos, los compuestos de la invención tienen valores de CI₅₀ de 0,01 µM a 1 µM, o más particularmente de 1 nM a 1 µM. En aún otros ejemplos, los compuestos de la invención tienen valores de CI₅₀ de menos de 1 nM o más de 10 µM. Los compuestos de la invención pueden exhibir una inhibición porcentual mayor de un 50%, o en otras realizaciones, pueden exhibir una inhibición porcentual mayor de aproximadamente un 70%, frente a una o más de las siguientes cinasas a 10 µM: cinasas c-kit, PDGFRα, PDGFRβ, CSF1R, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGFβ, SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2β, BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf.

[0056] Los compuestos de la invención pueden usarse también para el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por cinasa, tal como enfermedades mediadas por las cinasas c-kit, PDGFRα, PDGFRβ, CSF1R, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGFβ, SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2β, BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf.

Más particularmente, los compuestos de la invención pueden usarse para el tratamiento y prevención de asma, dermatitis atópica, urticaria, síndrome del intestino irritable (SII), o una enfermedad fibrótica incluyendo, pero sin limitación, esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), hipertensión pulmonar primaria (HPP), hipertensión arterial pulmonar primaria (HAPP), hipertensión arterial idiopática (HAI), fibrosis hepática, fibrosis renal y fibrosis cardíaca.

Farmacología y utilidad

[0057] Se seleccionan los compuestos de la invención frente al panel de cinasas (naturales y/o mutación de las mismas), y pueden modular la actividad de al menos un miembro del panel de cinasas. Como tales, los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar enfermedades o trastornos en que las cinasas contribuyan a la patología y/o sintomatología de la enfermedad. Los ejemplos de cinasas que pueden inhibirse por los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria y ante las que los procedimientos descritos en la presente memoria pueden ser útiles incluyen, pero sin limitación, las cinasas c-kit, PDGFRα, PDGFRβ, CSF1R, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TGFβ, SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2β, BRK, Fms, KDR, c-raf o b-raf.

c-Kit

[0058] Los mastocitos son elementos tisulares derivados de un subconjunto particular de blastocitos hematopoyéticos que expresan antígenos CD34, c-kit y CD13. Los mastocitos se caracterizan por su heterogeneidad, no solo respecto a la localización en tejido y la estructura, sino también a niveles funcional e histoquímico. Los progenitores de mastocitos inmaduros circulan por la corriente sanguínea y se diferencian en diversos tejidos. Estos procesos de diferenciación y proliferación están bajo la influencia de las citocinas, siendo una de importancia el factor de blastocitos (SCF), también llamado el ligando Kit, factor Steel o factor de crecimiento de mastocitos. El receptor de factor de blastocitos está codificado por el protooncogén c-kit, que se expresa en células progenitoras hematopoyéticas, mastocitos, células germinales, células intersticiales de Cajal (CIC) y algunos tumores humanos, y se expresa también en células no hematopoyéticas.

[0059] Las tirosina cinasas son proteínas de tipo receptor o de tipo no receptor que transfieren el fosfato terminal del ATP a restos tirosina de las proteínas, activando o desactivando así las rutas de transducción de señal. El receptor de factor de blastocitos, c-kit, es una proteína tirosina cinasa receptora transmembrana de tipo III que inicia las cascadas de transducción de señal de crecimiento y proliferación celulares en respuesta a la unión a SCF. El ligamiento de un receptor c-kit a SCF induce su dimerización, seguido de su transfosforilación, conduciendo al agrupamiento y activación de diversos sustratos intracitoplasmáticos. Estos sustratos activados inducen múltiples rutas de señalización intracelular responsables de la proliferación y activación celulares. Estas proteínas son

conocidas por estar implicadas en muchos mecanismos celulares, que en caso de desestabilización, conducen a trastornos tales como proliferación y migración celular anormales, así como inflamación. Los compuestos de la presente invención pueden inhibir procesos celulares que implican a SCF, tales como inhibir la autofosforilación del receptor de SCF y la activación estimulada por SCF de MAPK cinasa (proteína cinasa activada por mitógeno).

5

[0060] La actividad de la proteína tirosina cinasa receptora c-kit está regulada en células normales, y la actividad funcional normal del producto génico c-kit es importante para el mantenimiento de una hematopoyesis, melanogénesis, gametogénesis y crecimiento y diferenciación de mastocitos normales. Además de su importancia en las actividades fisiológicas celulares normales, c-kit desempeña un papel en los aspectos biológicos de ciertos cánceres humanos, y la actividad cinasa desregulada de c-kit está implicada en la patogénesis de cánceres humanos y en ciertos tipos de tumores. La proliferación del crecimiento de células tumorales mediado por c-kit puede ocurrir por una mutación específica del polipéptido c-kit que da como resultado la activación independiente de ligando, o mediante estimulación autocrina, del receptor. En el primer caso, las mutaciones que causan la activación constitutiva de la actividad c-kit cinasa en ausencia de unión a SCF están implicadas en cánceres humanos malignos, incluyendo tumores de células germinales, tumores de mastocitos, tumores estromales gastrointestinales, carcinoma pulmonar microcítico, melanoma, cáncer de mama, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma y mastocitosis.

10

15

[0061] Los mastocitos presentes en los tejidos de pacientes están implicados en o contribuyen a la génesis de enfermedades tales como enfermedades autoinmunitarias (esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias intestinales (EII)), enfermedades alérgicas, angiogénesis tumoral, enfermedades inflamatorias y cistitis intersticial. Las enfermedades alérgicas incluyen, pero sin limitación, rinitis alérgica, sinusitis alérgica, síndrome anafiláctico, urticaria, angioedema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, eritema nodular, eritema multiforme, venulitis necrosante cutánea, inflamación cutánea por picadura de insecto y asma. El asma se caracteriza por una obstrucción de las vías aéreas, hipersensibilidad bronquial e inflamación de las vías aéreas, e incluye asma bronquial y asma alérgica.

20

25

[0062] En estas enfermedades, los mastocitos participan en la destrucción de tejidos liberando un cóctel de diferentes proteasas y mediadores tales como histamina, proteasas neutras, mediadores derivados de lípido (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), y diversas citocinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF-A, GM-CSF, MIP-LA, MIP-Ib, MIP-2 e IFN- γ). La activación de mastocitos induce diversas respuestas efectoras tales como la secreción de mediadores alérgicos, proteasas, quimiocinas tales como MCP-1 y RANTES, leucotrienos, prostaglandinas, neurotrofinas, la inducción de la transcripción génica de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TNF α y GM-CSF). Estos mediadores contribuyen a crear el fenotipo asmático por sus efectos sobre las células endoteliales, las células de músculo liso y los fibroblastos y sobre la matriz extracelular, y agrupando otras células inflamatorias.

30

35

[0063] Los mastocitos pueden desempeñar un papel en el asma como se sugiere por el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-IgE humanizados. El fundamento de la terapia anti-IgE es orientar específicamente a IgE, con el resultado de inactivar anti-IgE libre y detener la producción adicional de IgE. Además, puesto que los niveles de IgE son un regulador importante del nivel de expresión del receptor de IgE Fc ϵ RI, un fin de esta terapia es reducir la expresión de Fc ϵ RI en mastocitos y basófilos y, como consecuencia, reducir la capacidad de estas células de activarse. La capacidad de la terapia anti-IgE de reducir la expresión de Fc ϵ RI se ha demostrado en basófilos. La reducción de la expresión de Fc ϵ RI en basófilos está asociada a una reducción de la capacidad de los basófilos de secretar mediadores tras la activación.

40

45

[0064] Los inhibidores de c-kit pueden usarse también en el tratamiento de diabetes sacarina no insulino dependiente (DSNID), también conocida como diabetes de tipo II, una enfermedad crónica que aparece cuando la insulina es ineficaz en la promoción de la captación de glucosa por las células, dando como resultado niveles aumentados de glucosa en la sangre. Esta enfermedad afecta aproximadamente a 100 millones de personas en todo el mundo, el 75% de las cuales son obesas en el momento del diagnóstico. Durante muchos años, la insuficiencia de la regulación de la captación de glucosa ha conducido al desarrollo de diabetes de tipo II, y el nivel de glucosa sanguínea tiene que regularse con productos médicos. En última instancia, el nivel de glucosa sanguínea no regulado es el responsable de daños en vasos sanguíneos, riñón y ojo, así como de enfermedades cardiovasculares. Este daño a tejidos contribuye a la mortalidad en diabéticos.

50

55

[0065] Además, la activación de mastocitos por diferentes estímulos tales como estrés, traumatismo, infección así como neurotransmisores, puede participar en la exacerbación del desequilibrio químico causando trastornos del SNC. Más específicamente, la desgranulación de mastocitos está estimulada por neurotransmisores comunes tales como neurotensina, somatostatina, sustancia P y acetilcolina, por factores de crecimiento o supervivencia, especialmente NGF y TGF β . Los mastocitos implicados en la respuesta a dicho estímulo pueden ser mastocitos cerebrales, pero también otros mastocitos que liberan el contenido de sus gránulos en la corriente sanguínea que en última instancia alcanza las neuronas sensoriales, motoras o cerebrales. La tinción de mastocitos cerebrales es tinción de tipo CTMC, pero muestran el patrón de secreción de MMC, implicando que constituyen un subconjunto particular de mastocitos que presentan especificidades.

60

65

[0066] Después de la activación de mastocitos, los gránulos liberados liberan diversos factores capaces de

modular y alterar la neurotransmisión y la supervivencia neuronal. Entre dichos factores, la serotonina es importante, puesto que se ha observado un aumento en el nivel de serotonina libre en pacientes deprimidos. Como alternativa, la descarga repentina de serotonina puede estar seguida de un periodo de escasez de serotonina, que conduce a dolor y migraña. Como consecuencia, se cree que los mastocitos exacerbaban de manera autocrina o paracrina la desregulación de la neurotransmisión. Por ejemplo, la ansiedad o la liberación inducida por el estrés de neurotransmisores tales como serotonina activa los mastocitos, que a su vez liberan el contenido de sus gránulos, contribuyendo adicionalmente al desequilibrio químico en el cerebro, conduciendo a trastornos del SNC.

[0067] Otros mediadores liberados por mastocitos pueden clasificarse en vasoactivos, nociceptivos, proinflamatorios y otros neurotransmisores. Tomados en conjunto, estos factores son capaces de inducir una gran perturbación en la actividad de las neuronas, tanto sensoriales, motoras como neuronas del SNC. Además, los pacientes aquejados de mastocitosis tienen más tendencia a desarrollar trastornos del SNC que la población normal. Esto puede explicarse por la presencia de mutaciones activadoras en el receptor c-kit, que inducen la desgranulación de los mastocitos y una descarga de factores contribuyentes al desequilibrio químico y a la alteración de la neurotransmisión.

[0068] En algunos casos, los mastocitos activados pueden participar también en la destrucción de tejidos neuronales liberando un cóctel de diferentes proteasas y mediadores clasificados en tres grupos: mediadores asociados a gránulos preformados (histamina, proteoglicanos y proteasas neutras), mediadores derivados de lípidos (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) y diversas citocinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF, MIP-LA, MIP-1b, MIP-2 e IFN γ). La liberación por mastocitos activados de mediadores (TNF- α , histamina, leucotrienos, prostaglandinas, etc.) así como proteasas puede i) inducir inflamación y vasodilatación y ii) participar en el proceso de destrucción del tejido neuronal. La inhibición de la actividad c-kit reduce la proliferación celular, agotando los mastocitos responsables de enfermedades y/o afecciones, sugiriendo así un papel para el uso de inhibidores de c-kit en el tratamiento de enfermedades y/o afecciones dependientes de c-kit, tales como trastornos del SNC.

[0069] Se ha identificado también que los mastocitos están implicados en o contribuyen a la dependencia de fármacos y síntomas de abstinencia. La dependencia de fármacos es el resultado de un fenómeno llamado tolerancia, que es la necesidad de aumentar la dosis de fármaco para mantener su efecto completo, y de la dependencia física, que es la habituación del cuerpo a un fármaco. Cuando se interrumpe la toma de fármaco, el individuo puede experimentar un síndrome de abstinencia desagradable.

[0070] La activación de mastocitos por diferentes fármacos incluyendo, pero sin limitación, derivados de ácido salicílico, derivados de morfina, opiáceos, heroína, anfetaminas, alcohol, nicotina, analgésicos, anestésicos y ansiolíticos da como resultado la desgranulación de los mastocitos, que participan en la exacerbación del desequilibrio químico responsables de la habituación a fármacos y del síndrome de abstinencia. Después de la activación de mastocitos, los gránulos liberados liberan diversos factores capaces de modular y alterar la neurotransmisión. Entre dichos factores está la morfina, que se une a o almacena en los gránulos de mastocitos. El humo de tabaco induce también la liberación de mediadores de mastocitos caninos y modula la producción de prostaglandina que conduce al asma. Además, los pacientes aquejados por mastocitosis tienen más tendencia a desarrollar trastornos por el uso de sustancias que la población normal. Esto puede explicarse por la presencia de mutaciones activadoras en el receptor c-kit, que inducen la desgranulación de mastocitos y una descarga de factores contribuyentes al desequilibrio químico y a la alteración de la neurotransmisión.

[0071] Actualmente, no hay disponible un tratamiento que proporcione alivio y ayuda a individuos en la abstinencia de trastornos por abuso de sustancias. Los inhibidores de c-kit pueden usarse para tratar trastornos por abuso de sustancias, particularmente adicción a fármacos, abuso de fármacos, habituación a fármacos, dependencia de fármacos, síndrome de abstinencia y sobredosis, que comprenden administrar un compuesto capaz de agotar los mastocitos en un ser humano necesitado de dicho tratamiento.

[0072] c-kit tiene una homología sustancial con el receptor de PDGF y el receptor de CSF-1 (c-Fms). Las investigaciones sobre diversas líneas celulares eritroides y mieloides indican la expresión del gen c-kit en las etapas tempranas de la diferenciación (Andre y col., *Oncogene* 4 (1989), 1047-1049). Ciertos tumores tales como células de tipo glioblastoma exhiben igualmente una pronunciada expresión del gen c-kit.

PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas)

[0073] El PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) desempeña un papel importante tanto en el crecimiento normal como en la proliferación celular patológica. Los compuestos de la invención pueden inhibir la actividad del receptor de PDGF (PDGFR) y pueden usarse como agente para tratar trastornos proliferativos no malignos, tales como esclerodermia y otros trastornos fibróticos, aterosclerosis, trombosis o psoriasis. Los compuestos de la presente invención pueden usarse también como sustancia inhibidora de tumores, por ejemplo, en carcinoma pulmonar microcítico, sarcomas, tumores de próstata y tumores de colon, mama y ovario.

[0074] En una realización, los compuestos de la invención pueden usarse para el tratamiento y prevención de

un trastorno o enfermedad fibrótico, una afección ligada con o asociada a la formación y deposición de componentes de matriz extracelular en los órganos internos, incluyendo los riñones, corazón, pulmones, hígado, piel y articulaciones. Diversos estudios han implicado al PDGFR como un miembro básico en las respuestas fibróticas a la lesión de tejidos, por ejemplo:

- 5
- i) el PDGF está regulado por aumento en macrófagos alveolares de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI);
 - ii) el PDGFR β es uno de los primeros genes regulados por aumento después de la activación de las células estrelladas hepáticas para convertirse en miofibroblastos, una etapa básica del desarrollo de fibrosis en el hígado;
 - 10 iii) el PDGF y sus receptores están significativamente regulados por aumento en esclerodermia, y regulados por aumento de forma similar en el proceso de fibrogénesis renal;
 - 15 iv) el PDGF se induce por lesión y/o citocinas proinflamatorias, o de modo autocrino en miofibroblastos guiando su proliferación, diferenciación y migración. Estos miofibroblastos secretan entonces proteínas de matriz extracelular y colágeno que conducen a la cicatrización y daño progresivo de órganos. La secreción de TGF β contribuye significativamente también a la producción de colágeno durante la fibrogénesis;
 - 20 v) un transgén PDGF-C induce el desarrollo de fibrosis hepática en ratones, mientras que una versión dominante negativa soluble de PDGFR β evita la fibrosis hepática en ratas; y
 - vi) la administración de PDGF-B al riñón promovía signos de fibrogénesis renal en ratas.

[0075] Los trastornos o enfermedades fibróticos que pueden tratarse usando los compuestos de la invención incluyen enfermedades pulmonares fibróticas tales como fibrosis pulmonar (o enfermedad pulmonar intersticial o fibrosis pulmonar intersticial), fibrosis pulmonar idiopática, hipertensión pulmonar primaria, hipertensión pulmonar arterial idiopática, el elemento fibrótico de la pneumoconiosis (que está asociado a la exposición a riesgos ambientales tales como humo, asbesto, borra de algodón, polvo de roca, polvo de mina y otras partículas), sarcoidosis pulmonar, alveolitis fibrosante, el elemento fibrótico o hipertrófico de la fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de las dificultades respiratorias en adulto y enfisema. Los compuestos de la invención pueden usarse también para el tratamiento y la prevención de enfermedades que tienen como manifestación la hipertrofia fibrótica de los riñones (fibrosis renal), hígado (fibrosis hepática), corazón (fibrosis cardiaca), próstata (por ejemplo, hipertrofia prostática benigna (HPB)), pleura (por ejemplo, pleuresía, fibrosis pleural), páncreas y la piel y/o tejidos musculares tales como esclerodermia, fascitis eosinofílica, lesiones discordes asociadas al lupus o lupus discoide o adhesiones quirúrgicas.

[0076] Otros trastornos o enfermedades fibróticos que pueden tratarse usando los compuestos de la invención incluyen, pero sin limitación, esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, fibrodisplasia, enfermedad fibroquística, sarcoidosis, miositis (por ejemplo, polimiositis, polimiositis idiopática primaria, polimiositis infantil, dermatomiositis, dermatomiositis infantil, dermatomiositis idiopática primaria en adultos, miositis de cuerpos de inclusión, polimiositis o dermatomiositis asociadas a tumores malignos); enfermedades que tienen como manifestación una hipertrofia fibrótica de la íntima tales como vasculitis (incluyendo vasculitis arterial coronaria), poliarteritis nodular o arteritis temporal; enfermedades que tienen como manifestación la hipertrofia fibrótica de tejido nervioso tales como cerebroesclerosis, esclerosis anular, esclerosis difusa o esclerosis lobular; y enfermedades que tienen como manifestación la hipertrofia fibrótica o fibrosis de la pared intestinal, tales como enfermedad inflamatoria del intestino, incluyendo enfermedad de Crohn.

[0077] Además, los compuestos de la presente invención pueden ser también útiles para la protección de blastocitos, por ejemplo, para combatir el efecto hemotóxico de los agentes quimioterapéuticos tales como 5-fluorouracilo; y pueden ser también útiles para el tratamiento de asma e hipereosinofilia. Los compuestos de la invención pueden usarse especialmente para el tratamiento de enfermedades que responden a una inhibición de la cinasa receptora de PDGF.

[0078] Los compuestos de la presente invención pueden exhibir también efectos útiles en el tratamiento de trastornos que surgen como resultado de un transplante, por ejemplo, transplante alogénico, especialmente rechazo de tejido, tal como bronquiolitis obliterante (BO), concretamente, un rechazo crónico de trasplantes alogénicos de pulmón. En contraposición con los pacientes sin BO, aquellos con BO muestran a menudo una concentración elevada de PDGF en los fluidos de lavado broncoalveolar.

[0079] Los compuestos de la presente invención pueden ser eficaces también contra enfermedades asociadas a la migración y proliferación de células del músculo liso vascular (en que PDGF y PDGFR desempeñan a menudo un papel), tales como reestenosis y aterosclerosis. Estos efectos y las consecuencias de los mismos para la proliferación o migración de células de músculo liso vascular *in vitro* e *in vivo* pueden demostrarse mediante la administración de los compuestos de la presente invención, y también investigando su efecto sobre el engrosamiento de la íntima vascular después de lesión mecánica *in vivo*.

CSF1R (FMS)

- [0080]** La proteína codificada por este gen es el receptor del factor de estimulación de colonias 1, una citocina que controla la producción, diferenciación y función de los macrófagos. El CSFR1 media la mayoría si no todos los efectos biológicos de esta citocina. La proteína codificada es una tirosina cinasa receptora transmembrana y miembro de la familia de receptores CSF1/PDGF de tirosina-proteína cinasas. Las mutaciones en este gen se han asociado a una predisposición a malignidad mielóide (véase, por ejemplo, Casas y col., Leuk. Lymphoma 2003 44: 1935-41).
- 10 Abl, Trk, Syk, Ras, Raf, MAPK, TGFβ, FGFR3, c-Src, SAPK, Lck, Fes, Csk
- [0081]** La tirosina cinasa de Abelson (concretamente Abl, c-Abl) está implicada en la regulación del ciclo celular, en la respuesta celular al estrés genotóxico y en la transmisión de información sobre el entorno celular mediante señalización de integrina. La proteína Abl parece servir para un papel complejo como módulo celular que integra señales de diversas fuentes extracelulares e intracelulares y que influye en decisiones con respecto al ciclo celular y la apoptosis. La tirosina cinasa de Abelson incluye derivados subtípicos tales como la fusión quimérica (oncoproteína) BCR-Abl con actividad tirosina cinasa desregulada o v-Abl.
- 15 **[0082]** La proteína de fusión BCR-Abl es el resultado de una translocación recíproca que fusiona el protooncogén Abl con el gen Bcr. La BCR-Abl es entonces capaz de transformar linfocitos B mediante el aumento de la actividad mitogénica. Este aumento da como resultado la reducción de la sensibilidad a la apoptosis, así como la alteración de la adhesión y alojamiento de células progenitoras de LMC.
- 20 **[0083]** La BCR-Abl es importante en la patogénesis del 95% de la leucemia mielógena crónica (LMC) y en el 10% de la leucemia linfocítica aguda. El STI-571 (GLEEVEC®) es un inhibidor de la tirosina cinasa BCR-Abl oncogénica y se usa para el tratamiento de leucemia mielóide crónica (LMC). Sin embargo, varios pacientes en la etapa de crisis blástica de la LMC son resistentes a STI-571 debido a mutaciones en la cinasa BCR-Abl. Se han notificado hasta la fecha más de 22 mutaciones, tales como G250E, E255V, T315I, F317L y M351T.
- 25 **[0084]** Los compuestos de la presente invención pueden inhibir cinasas abl, por ejemplo, la cinasa v-abl. Los compuestos de la presente invención pueden inhibir también la cinasa BCR-Abl natural y mutaciones de la cinasa BCR-Abl y ser por tanto adecuados para el tratamiento de cáncer y enfermedades tumorales positivas de Bcr-abl, tales como leucemias (especialmente leucemia mielóide crónica y leucemia linfoblástica aguda, en que se encuentran especialmente mecanismos de acción apoptótica). Los compuestos de la presente invención pueden ser eficaces también contra blastocitos leucémicos, y pueden ser potencialmente útiles para la purificación de estas células *in vitro* después de la retirada de dichas células (por ejemplo, retirada de médula ósea) y el reimplante de las células una vez se han desprovisto de células cancerosas (por ejemplo, reimplante de células de médula ósea purificadas).
- 30 **[0085]** La familia trk de receptores de neurotrofina (trkA, trkB, trkC) promueve la supervivencia, crecimiento y diferenciación de tejidos neuronales y no neuronales. La proteína TrkB se expresa en células de tipo neuroendocrino en el intestino delgado y el colon, y en células alfa del páncreas, en monocitos y macrófagos de los nódulos linfáticos y del bazo y en las capas granulares de la epidermis (Shibayama y Koizumi, 1996). La expresión de la proteína TrkB se ha asociado a una progresión desfavorable de tumores de Wilms y neuroblastomas. Además, TrkB se expresa en células cancerosas de próstata pero no en células normales. La ruta de señalización de posterior a los receptores de trk implica la cascada de activación de MAPK a través de los genes Shc, Ras activado, ERK-1 y ERK-2, y la ruta de transducción de PLC-gamma (Sugimoto y col., 2001).
- 35 **[0086]** Syk es una tirosina cinasa que desempeña un papel importante en la desgranulación de mastocitos y la activación de eosinófilos. En consecuencia, la cinasa Syk está implicada en diversos trastornos alérgicos, particularmente asma. Se ha mostrado que Syk se une a la cadena gamma fosforilada del receptor FcεR1 mediante los dominios SH2 N-terminales y es importante para la señalización posterior.
- 40 **[0087]** La ruta de señalización Ras-Raf-MEK-ERK media la respuesta celular a las señales de crecimiento. Ras muta a una forma oncogénica en ~15% de los cánceres humanos. La familia Raf pertenece a las serina/treonina proteína cinasas e incluye tres miembros, A-Raf, B-Raf y c-Raf (o Raf-1). B-Raf puede tener un papel destacado en la formación de ciertos tumores sin el requisito de un alelo Ras activado (Nature 417: 949-954 (2002)). Se han detectado mutaciones de B-Raf en un gran porcentaje de melanomas malignos.
- 45 **[0088]** Los tratamientos médicos existentes para el melanoma están limitados en su eficacia, especialmente para melanomas de etapa tardía. Los compuestos de la presente invención inhiben también procesos celulares que implican la cinasa b-Raf, proporcionando una nueva oportunidad terapéutica para el tratamiento de cánceres humanos, especialmente de melanoma.
- 50 **[0089]** Las proteína cinasas activadas por mitógeno (MAPK) son miembros de rutas de transducción de señal conservadas que activan factores de transcripción, factores de traducción y otras moléculas diana en respuesta a
- 55 **[0089]**
- 60 **[0089]**
- 65 **[0089]**

una variedad de señales extracelulares. Las MAPK se activan mediante fosforilación en un motivo de fosforilación dual que tiene la secuencia Thr-X-Tyr por proteína cinasa cinasas activadas por mitógeno (MKK). En eucariotas superiores, el papel fisiológico de la señalización de MAPK se ha correlacionado con eventos celulares tales como proliferación, oncogénesis, desarrollo y diferenciación. En consecuencia, la capacidad de regular la transducción de señal mediante estas rutas (particularmente mediante MKK4 y MKK6) podría conducir al desarrollo de tratamientos y terapias preventivas para enfermedades humanas asociadas a la señalización de MAPK, tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y cáncer.

5 **[0090]** Múltiples formas de la MAPK p38 (α , β , γ , δ), codificada cada una por un gen separado, forman parte de una cascada de cinasas implicada en la respuesta de células a una variedad de estímulos, incluyendo estrés osmótico, luz UV y eventos mediados por citocinas. Estas cuatro isoformas de p38 se cree que regulan aspectos diferentes de la señalización intracelular. Su activación es parte de una cascada de eventos de señalización que conducen a la síntesis y producción de citocinas proinflamatorias como TNF α . p38 funciona fosforilando los sustratos posteriores, que incluyen otras cinasas y factores de transcripción. Los agentes que inhiben la cinasa p38 se ha
10 15 mostrado que bloquean la producción de citocinas incluyendo, pero sin limitación, TNF α , IL-6, IL-8 e IL-1 β .

[0091] Los monocitos de sangre periférica (MSP) se ha mostrado que expresan y secretan citocinas proinflamatorias cuando se estimulan con lipopolisacárido (LPS) *in vitro*. Los inhibidores de p38 bloquean eficazmente este efecto cuando los MSP se pretratan con dichos compuestos antes de la estimulación con LPS. Los
20 inhibidores de p38 son eficaces en modelos animales de enfermedad inflamatoria. Los efectos destructivos de muchos estados patológicos están causados por la sobreproducción de citocinas proinflamatorias. La capacidad de los inhibidores de p38 de regular esta sobreproducción los hace útiles como agentes modificadores de la enfermedad.

25 **[0092]** Las moléculas que bloquean la función de p38 se ha mostrado que son eficaces en la inhibición de la resorción ósea, la inflamación y otras patologías inmunitarias y basadas en inflamación. Por tanto, un inhibidor de p38 seguro y eficaz proporcionaría un medio para tratar enfermedades debilitantes que pueden regularse mediante la modulación de la señalización de p38. Por lo tanto, los compuestos de la invención que inhiben la actividad de p38 son útiles para el tratamiento de inflamación, osteoartritis, artritis reumatoide, cáncer, enfermedades autoinmunitarias
30 y para el tratamiento de otras enfermedades mediadas por citocinas.

[0093] El factor de crecimiento transformante β (TGF β) denota una superfamilia de proteínas que incluye, por ejemplo, TGF β 1, TGF β 2 y TGF β 3, que son moduladores pleiotrópicos del crecimiento y diferenciación celulares, desarrollo embrionario y óseo, formación de matriz extracelular, hematopoyesis, respuestas inmunitarias e
35 inflamatorias. Los miembros de la familia TGF β inician las rutas de señalización intracelular que conducen en última instancia a la expresión de genes que regulan el ciclo celular, el control de las respuestas proliferativas o que se refieren a las proteínas de matriz extracelular que median la señalización celular de fuera adentro, la adhesión y migración celulares y la comunicación intercelular.

40 **[0094]** Por consiguiente, los compuestos de la invención que son inhibidores de la ruta de señalización intracelular de TGF β son productos terapéuticos útiles para enfermedades fibroproliferativas, incluyendo trastornos renales asociados a una actividad TGF β no regulada y fibrosis excesiva, incluyendo glomerulonefritis (GN) tal como GN mesangial proliferativa, GN inmunitaria y GN semilunar. Otras afecciones renales incluyen nefropatía diabética, fibrosis intersticial renal, fibrosis renal en pacientes de trasplante que reciben ciclosporina y nefropatía asociada al
45 VIH. Los trastornos vasculares del colágeno incluyen esclerosis sistémica progresiva, polimiositis, esclerodermia, dermatomiositis, fascitis eosinofílica, morfea o los asociados a la aparición del síndrome de Raynaud. Las fibrosis pulmonares resultantes de una actividad TGF β excesiva incluyen síndrome de las dificultades respiratorias en el adulto, EPOC, fibrosis pulmonar idiopática y fibrosis pulmonar intersticial, a menudo asociados a trastornos autoinmunitarios tales como lupus sistémico eritematoso y esclerodermia, contacto químico o alergias. Otro trastorno autoinmunitario asociado a características fibroproliferativas es la artritis reumatoide. Las afecciones fibroproliferativas pueden estar asociadas a procedimientos de cirugía ocular. Dichos procedimientos incluyen cirugía
50 de desprendimiento de retina que acompaña a una vitrorretinopatía proliferativa, extracción de cataratas con implante de lente intraocular y cirugía de drenaje postglaucoma.

55 **[0095]** Se ha mostrado que el receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 3 ejerce un efecto regulador negativo sobre el crecimiento óseo y una inhibición de la proliferación de condrocitos. La displasia tanatófica está causada por diferentes mutaciones en el receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 3. Una mutación, TDII FGFR3, tiene una actividad tirosina cinasa constitutiva que activa el factor de transcripción Stat1, conduciendo a la expresión de un inhibidor del ciclo celular, a la detención del crecimiento y a un desarrollo óseo anormal (Su y col.,
60 *Nature*, 1997, 386, 288-292). El FGFR3 se expresa también a menudo en múltiples cánceres de tipo mieloma.

[0096] La cinasa c-Src transmite señales oncogénicas de muchos receptores. Por ejemplo, la sobreexpresión de EGFR o HER2/neu en tumores conduce a la activación constitutiva de c-src, que es una característica de las células malignas pero está ausente de las células normales. Por otro lado, los ratones deficientes en expresión de c-src exhiben un fenotipo osteopetrótico, indicando una participación clave de c-src en la función osteoclástica y una
65 posible implicación en trastornos relacionados.

[0097] La familia de las proteína cinasas de S6 ribosómica humana consiste en al menos 8 miembros (RSK1, RSK2, RSK3, RSK4, MSK1, MSK2, p70S6K y p70S6 Kb). Las proteína cinasas de proteína ribosómica S6 desempeñan funciones pleiotrópicas importantes, entre ellas, está el papel clave en la regulación de la traducción de ARNm durante la biosíntesis de proteínas (Eur. J. Biochem. noviembre de 2000; 267(21): 6321-30, Exp Cell Res. 25 de noviembre de 1999; 253 (1):100-9, Mol. Cell Endocrinol. 25 de mayo de 1999; 151(1-2):65-77). La fosforilación de la proteína ribosómica S6 por p70S6 se ha implicado también en la regulación de la motilidad celular (Immunol. Cell Biol. agosto de 2000; 78(4): 447-51) y el crecimiento celular (Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 2000; 65: 101-27) y, por tanto, puede ser importante en la metástasis tumoral, la respuesta inmunitaria y la reparación de tejidos, así como otras afecciones patológicas.

[0098] Las SAPK (también llamadas "cinasas N-terminales jun" o "JNK") son una familia de proteína cinasas que representan la penúltima etapa de las rutas de transducción de señal que dan como resultado la activación del factor de transcripción c-jun y la expresión de genes regulados por c-jun. En particular c-jun está implicada en la transcripción de genes que codifican proteínas implicadas en la reparación de ADN que está dañado debido a ataques genotóxicos. Los agentes que inhiben la actividad de SAPK en una célula evitan la reparación del ADN y sensibilizan a la célula frente a aquellas modalidades terapéuticas cancerosas que actúan induciendo lesión de ADN.

[0099] Lck desempeña un papel en la señalización de linfocitos T. Los ratones que carecen del gen Lck tienen una baja capacidad de desarrollar timocitos. La función de Lck como activador positivo de la señalización de linfocitos T sugiere que los inhibidores de Lck pueden ser útiles para tratar enfermedades autoinmunitarias tales como artritis reumatoide.

[0100] Fes se expresa fuertemente en células hematopoyéticas mieloides y está implicada en las rutas de señalización tanto de diferenciación como de supervivencia en leucocitos mieloides. La CSK está implicada en cánceres, particularmente cánceres colorrectal y de mama.

[0101] De acuerdo con lo anterior, se describe en la presente memoria un procedimiento para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos anteriormente en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, comprendiendo dicho tratamiento administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz (véase "Administración y composiciones farmacéuticas" a continuación) de un compuesto de fórmulas (1), (2A), (2B) o (C), o una sal farmacéuticamente aceptables de los mismos. Para cualquiera de los usos anteriores, la dosificación necesaria variará dependiendo del modo de administración, de la afección particular para tratar y del efecto deseado.

Administración y composiciones farmacéuticas

[0102] Una composición farmacéutica, como se usa en la presente memoria, designa una mezcla de un compuesto de la invención con otros componentes químicos tales como portadores, estabilizantes, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la invención pueden administrarse en cantidades terapéuticamente eficaces como composiciones farmacéuticas mediante cualquier forma y vía convencionales conocidas en la materia incluyendo, pero sin limitación: administración intravenosa, oral, rectal, por aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar, transdérmica, vaginal, ótica, nasal y tópica.

[0103] Puede administrarse el compuesto de manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección del compuesto directamente en un órgano, a menudo en una formulación de liberación prolongada o sostenida. Además, puede administrarse la composición farmacéutica que contiene un compuesto de la invención en un sistema de suministro de fármaco orientado, por ejemplo, en un liposoma recubierto con anticuerpo específico de órgano. Los liposomas se orientarán a y se captarán selectivamente por el órgano. Además, las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la invención pueden proporcionarse en forma de una formulación de liberación rápida, en forma de una formulación de liberación extendida o en forma de una formulación de liberación intermedia.

[0104] Para administración oral, un compuesto de la invención puede formularse fácilmente combinando los compuestos activos con portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la materia. Dichos portadores posibilitan que los compuestos descritos en la presente memoria se formen como comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, elixires, suspensiones densas, suspensiones y similares para ingestión oral por un paciente que se va a tratar.

[0105] Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse mezclando uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Son excipientes adecuados, en particular, cargas tales como azúcares,

incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio u otros tales como: polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato de calcio. Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como croscarmelosa de sodio reticulada, polivinilpirrolidona, agar o ácido alginico o una sal del mismo tales como alginato de sodio.

[0106] Los núcleos de grageas pueden proporcionarse con recubrimientos adecuados. Con este fin, pueden usarse disoluciones de azúcar concentradas, que pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, disoluciones de lacado y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Pueden añadirse tintes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de gragea para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

[0107] Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos en mezcla con cargas tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, el compuesto activo puede disolverse o suspenderse en líquidos adecuados tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse estabilizantes.

[0108] Para administración bucal o sublingual, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos, pastillas masticables o geles formulados de manera convencional. Las inyecciones parenterales pueden implicar inyección en embolada o infusión continua. La composición farmacéutica de un compuesto de la invención puede estar en una forma adecuada para inyección parenteral como suspensiones, disoluciones o emulsiones estériles en vehículos oleosos o acuosos, y puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o de dispersión. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los compuestos activos en forma hidrosoluble. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácido graso sintéticos tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes o adecuados o agentes que aumenten la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas. Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua exenta de pirógenos, antes del uso.

[0109] Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía tópica y pueden formularse en una variedad de composiciones administrables por vía tópica, tales como disoluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, barras medicadas, bálsamos, cremas o ungüentos. Dichos compuestos farmacéuticos pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.

[0110] Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica pueden emplear dispositivos de suministro transdérmico y parches de suministro transdérmico, y pueden ser emulsiones lipófilas o disoluciones acuosas tamponadas, disueltas y/o dispersadas en un polímero o un adhesivo. Dichos parches pueden construirse para suministro continuo, por pulsos o ante demanda de los agentes farmacéuticos. Es más, el suministro transdérmico de los compuestos de la invención puede lograrse mediante parches iontoforéticos y similares. Adicionalmente, los parches transdérmicos pueden proporcionar un suministro controlado de los compuestos de la invención. La velocidad de absorción puede retardarse usando membranas controladoras de la velocidad o atrapando el compuesto en una matriz polimérica o gel. A la inversa, pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar la absorción. Un potenciador de la absorción o portador puede incluir disolventes farmacéuticamente absorbibles aceptables para ayudar al paso a través de la piel. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en forma de una venda que comprende un miembro de soporte, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera controladora de la velocidad para suministrar el compuesto a la piel del hospedador a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo prolongado de tiempo y medios para fijar el dispositivo a la piel.

[0111] Para administración por inhalación, los compuestos de la invención pueden estar en forma de un aerosol, un vapor o un polvo. Las composiciones farmacéuticas de los compuestos de la invención pueden administrarse convenientemente en forma de una presentación de pulverizador en aerosol de envases a presión o un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol a presión, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos tales como, solo a modo de ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador, que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

[0112] Los compuestos de la invención pueden formularse también en composiciones rectales tales como enemas, geles rectales, espumas rectales, aerosoles rectales, supositorios, supositorios de jalea o enemas de retención, que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos, así

como polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona, PEG y similares. En las formas de supositorio de las composiciones, se funde en primer lugar una cera de bajo punto de fusión tal como, pero sin limitación, una mezcla de glicéridos de ácidos grasos, opcionalmente en combinación con manteca de cacao.

5 **[0113]** Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Cualquiera de las técnicas, portadores y excipientes bien conocidos pueden usarse como adecuados y como se entiende en la materia. Las composiciones farmacéuticas que
10 comprenden un compuesto de la invención pueden fabricarse de manera convencional tal como, solo a modo de ejemplo, mediante procesos de mezclado, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atropamiento o compresión convencionales.

[0114] Las composiciones farmacéuticas incluirán al menos un portador, diluyente o excipiente
15 farmacéuticamente aceptable y un compuesto de las fórmulas (1), (2A) o (2B) descritas en la presente memoria como ingrediente activo en forma de ácido libre o base libre, o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. Además, los procedimientos y composiciones farmacéuticas descritos en la presente memoria incluyen el uso de *N*-
20 óxidos, formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), así como metabolitos activos de estos compuestos que tengan el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, pueden existir compuestos en forma de tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en la presente memoria. Adicionalmente, los compuestos descritos en la presente memoria pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Se considera que las formas solvatadas de los compuestos presentados en la presente memoria se dan a conocer también en la presente memoria. Además, las composiciones farmacéuticas pueden incluir otros agentes, portadores, coadyuvantes
25 médicos o farmacéuticos tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de la disolución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, las composiciones farmacéuticas pueden contener también otras sustancias terapéuticamente valiosas.

[0115] Los procedimientos para la preparación de composiciones que comprenden los compuestos descritos
30 en la presente memoria incluyen formular los compuestos con uno o más excipientes o portadores inertes farmacéuticamente aceptables para formar un sólido, semisólido o líquido. Dichas composiciones incluyen, pero sin limitación, polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, sellos y supositorios. Las composiciones líquidas incluyen disoluciones en que se disuelve un compuesto, emulsiones que comprenden un compuesto o una disolución que contiene liposomas, micelas o nanopartículas que comprenden un compuesto como se da a conocer
35 en la presente memoria. Las composiciones semisólidas incluyen, pero sin limitación, geles, suspensiones y cremas. Las composiciones pueden estar en disoluciones o suspensiones líquidas, en formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en un líquido antes del uso o en emulsiones. Estas composiciones pueden contener también cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH y demás.

40 **[0116]** Puede encontrarse un resumen de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, por ejemplo, en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., "Remington's Pharmaceutical Sciences" Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., "Pharmaceutical Dosage Forms", Marcel Decker, Nueva
45 York, N.Y., 1980 y "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems", 7ª Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999),

Procedimientos de administración y procedimientos de tratamiento

50 **[0117]** Las composiciones que contienen el compuesto o compuestos descritos en la presente memoria pueden administrarse para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que ya padece una enfermedad o afección en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad o afección. Se considera bien dentro de las habilidades de la materia determinar dichas cantidades terapéuticamente eficaces mediante experimentación
55 rutinaria (incluyendo, pero sin limitación, un ensayo clínico de incremento escalonado de la dosis).

[0118] Los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con un segundo agente terapéutico. Por ejemplo, si uno de los efectos secundarios experimentados por un paciente tras recibir uno de los compuestos de la presente memoria es la inflamación, los compuestos de la invención pueden administrarse en combinación con
60 un agente antiinflamatorio. La eficacia terapéutica de un compuesto descrito en la presente memoria puede potenciarse también mediante la administración de un coadyuvante. Cuando los compuestos de la invención se administran junto con otras terapias, las dosificaciones de los compuestos coadministrados variarán dependiendo del tipo de cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la enfermedad o afección que se esté tratando y demás. Además, cuando se coadministran con uno o más agentes biológicamente activos, los
65 compuestos de la invención pueden administrarse simultáneamente con el agente o agentes biológicamente activos, o secuencialmente. La administración de un compuesto de la invención en combinación con un segundo agente

terapéutico puede tener un efecto aditivo o sinérgico.

[0119] En algunos ejemplos, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con un agente antifibrótico; por ejemplo, un agente que interfiere con o modula la progresión de una enfermedad fibrótica tal como esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), hipertensión pulmonar primaria (HPP), hipertensión arterial pulmonar primaria (HAPP), hipertensión arterial idiopática (HAI), fibrosis hepática, fibrosis renal y fibrosis cardíaca. Los ejemplos de agentes antifibróticos que pueden usarse en combinación con un compuesto de la invención incluyen, pero sin limitación, pirfenidona (Nakazoto y col., *Eur. J. Pharmacol.* 446: 177-185 (2002), tacrolímús (Nagano y col., *Eur. Respir. J.* 27: 460-469 (2006) o 5-cloro-2-((1E)-3-[2-(4-metoxibenzoil)-4-metil-1H-pirrol-1-il]prop-1-en-1-il]-N-(metilsulfonil)benzamida (SMP-534) (Sugaru y col., *Am. J. Nephrology* 26: 50-58 (2006)). Los compuestos de la invención pueden usarse también en combinación con un agente antiinflamatorio incluyendo, pero sin limitación, corticosteroides y cromolinas, antagonistas de leucotrieno y bloqueantes de IgE tales como omalizumab. En otros ejemplos, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con una medicación para tratar el asma; por ejemplo, broncodilatadores tales como agonistas de β_2 , xantinas (por ejemplo, metilxantinas) y anticolinérgicos y un agente antiinflamatorio como se describe anteriormente.

[0120] Los compuestos de la invención pueden usarse también en combinación con un agente quimioterapéutico para tratar un trastorno proliferativo celular incluyendo, pero sin limitación, linfoma, osteosarcoma, melanoma o un tumor de mama, renal, de próstata, colorrectal, de tiroides, de ovario, pancreático, neuronal, pulmonar, uterino o gastrointestinal. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos que pueden usarse en las composiciones y procedimientos de la invención incluyen, pero sin limitación, antraciclinas, agentes alquilantes (por ejemplo mitomicina C), sulfonatos de alquilo, aziridinas, etileniminas, metilmelaminas, mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, antibióticos, antimetabolitos, análogos de ácido fólico (por ejemplo, inhibidores de dihidrofolato reductasa tales como metotrexato), análogos de purina, análogos de pirimidina, enzimas, podofilotoxinas, agentes que contienen platino, interferones e interleucinas. Los ejemplos particulares de agentes quimioterapéuticos particulares que pueden usarse en las composiciones y procedimientos de la invención incluyen, pero sin limitación, busulfán, improsulfán, piposulfán, benzodepa, carboquona, meturedpa, uredepa, altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilfosforamida, trimetilolmelamina, clorambucilo, clornafacina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina, dacarbazina, manomustina, initobronitol, mitolactol, pipobromán, aclacinomicinas, actinomicina F(1), antramicina, azaserina, bleomicina, cactinomicina, carubicina, carcinofilina, cromomicina, dactinomicina, daunorubicina, daunomicina, 6-diazo-5-oxo-1-norleucina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicina, peplomicina, plicamicina, porfiromicina, puomicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina, denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato, fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, fluorouracilo, tegafur, L-asparaginasa, pulmozima, aceglatona, glicósido de aldofosfamida, ácido aminolevulínico, amsacrina, bestrabucilo, bisantreno, carboplatino, cisplatino, defosfamida, demecolcina, diaziquona, elfornitina, acetato de eliptinio, etoglúcido, etopósido, flutamida, nitrato de galio, hidroxurea, interferón α , interferón β , interferón γ , interleucina 2, lentinano, lonidamina, mitoguazona, mitoxantrona, mopidamol, nitracrina, pentostatina, fenamet, pirarubicina, ácido podofilínico, 2-etilhidrazida, procarbazona, razoxano, sizofirano, espirogermanio, paclitaxel, tamoxifeno, tenipósido, ácido tenuazónico, triaziquona, 2,2',2"-triclorotrietilamina, uretano, vinblastina, vincristina y vindesina.

[0121] En general, los compuestos de la invención se administrarán en cantidades terapéuticamente eficaces mediante cualquiera de los modos habituales y aceptables conocidos en la materia, individualmente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar ampliamente dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad y salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto usado y otros factores. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios sistémicamente a dosificaciones diarias de aproximadamente 0,03 a 2,5 mg/kg de peso corporal. Una dosificación diaria indicada en mamíferos superiores, por ejemplo en seres humanos, está en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, administrada convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas de dosificación unitaria adecuadas para administración oral comprenden de aprox. 1 a 50 mg de ingrediente activo.

[0122] La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos regímenes terapéuticos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales incluyendo, pero sin limitación, determinar la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz para el 50% de la población). La relación de dosis entre el efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación entre DL_{50} y DE_{50} . Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivo celulares y estudios animales pueden usarse para formular una serie de dosificaciones para uso en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE_{50} con toxicidad mínima. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada.

65

Procesos para la preparación de compuestos de la invención

- [0123]** Se describen procedimientos generales para la preparación de compuestos de la invención en los ejemplos siguientes. En las reacciones descritas, los grupos funcionales reactivos, por ejemplo, grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando estos se desean en el producto final, pueden protegerse para evitar su participación indeseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.
- 10 **[0124]** Un compuesto de la invención puede prepararse como sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Como alternativa, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención puede prepararse haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Como alternativa, las formas salinas de los compuestos de la invención pueden prepararse usando sales de los materiales de partida o intermedios.
- 15 **[0125]** Las formas de ácido libre o base libre de los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de la correspondiente forma de sal de adición de base o sal de adición de ácido, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido puede convertirse en la correspondiente base libre tratando con una base adecuada (por ejemplo, disolución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio y similares). Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base puede convertirse en el correspondiente ácido libre tratando con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).
- 20 **[0126]** Los compuestos de la invención en forma no oxidada pueden prepararse a partir de *N*-óxidos de compuestos de la invención tratando con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) a 0 a 80°C.
- 25 **[0127]** Los derivados de profármaco de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante procedimientos conocidos por los especialistas en la materia (por ejemplo, para detalles adicionales véase Saulnier y col., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Por ejemplo, pueden prepararse profármacos apropiados haciendo reaccionar un compuesto no derivatizado de la invención con un agente carbamilo adecuado (por ejemplo, carbanocloridato de 1,1-aciloxialquilo, carbonato de para-nitrofenilo o similares).
- 30 **[0128]** Los derivados protegidos de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante medios conocidos por los especialistas en la materia. Puede encontrarse una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su retirada en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.
- 35 **[0129]** Los compuestos de la presente invención pueden prepararse o formarse convenientemente durante el proceso de la invención como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente mediante recristalización con una mezcla de disolventes acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.
- 40 **[0130]** Los compuestos de la invención pueden prepararse como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisoméricos, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. La resolución de enantiómeros puede llevarse a cabo usando derivados diastereoisoméricos covalentes de los compuestos de la invención, o usando complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoisoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidad, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereómeros pueden separarse por cromatografía o mediante técnicas de separación/resolución basadas en las diferencias de solubilidad. Se recupera entonces el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, mediante cualquier medio práctico que no dé como resultado racemización. Puede encontrarse una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.
- 50 **[0131]** En resumen, los compuestos que tienen fórmulas (1), (2A), (2B) o (2C) pueden prepararse mediante un proceso que implica:
- 55 (a) procedimientos generales como se describen en los ejemplos siguientes; y
- 60 (b) convirtiendo opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
- 65

(c) convirtiendo opcionalmente una forma salina de un compuesto de la invención en una forma no salina;

5 (d) convirtiendo opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un *N*-óxido farmacéuticamente aceptable;

(e) convirtiendo opcionalmente una forma de *N*-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;

10 (f) resolviendo opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;

15 (g) convirtiendo opcionalmente un compuesto no derivatizado de la invención en un derivado profármaco farmacéuticamente aceptable; y

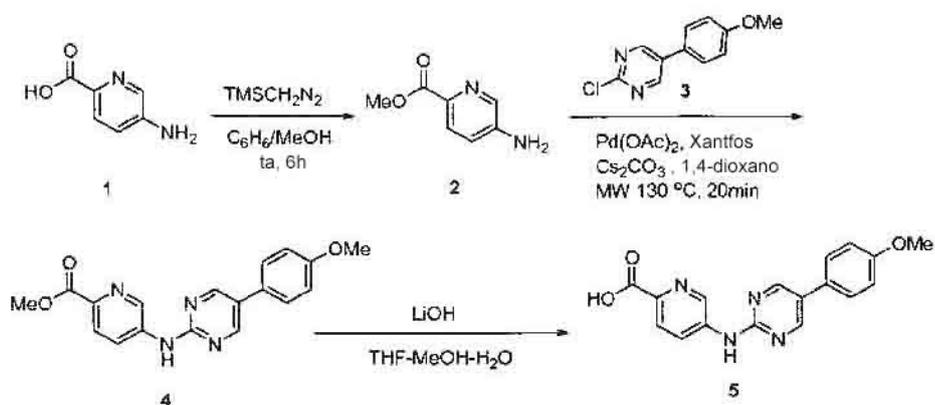
(h) convirtiendo opcionalmente un derivado profármaco de un compuesto de la invención en su forma no derivatizada.

20 **[0132]** En la medida en que la producción de los materiales de partida no se describe particularmente, los compuestos son conocidos o pueden prepararse análogamente a procedimientos conocidos en la técnica o como se dan a conocer en los ejemplos a continuación en la presente memoria. Un especialista en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son solo representativas de procedimientos de preparación de los compuestos de la presente invención, y que pueden usarse de forma similar otros procedimientos bien conocidos.

25 **[0133]** Se ofrecen los siguientes ejemplos para ilustrar, pero no limitar, la invención.

Preparación de intermedios

30 Síntesis del ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico
[0134]



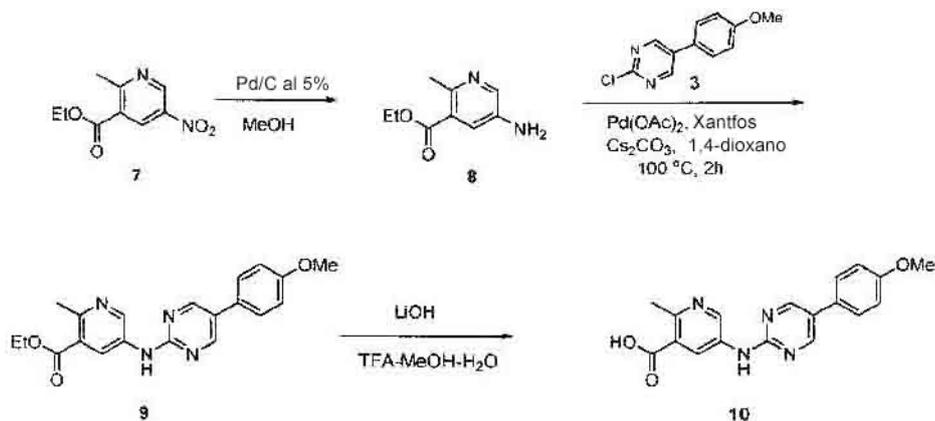
35 **[0135]** Se disuelve ácido 5-aminopiridin-2-carboxílico 1 (5,4 mmol) en benceno:MeOH = 3:1 (40 ml) y se enfría en un baño de hielo a 0°C. Se añade lentamente a la disolución TMSCH₂N₂ 2 M en disolución de Et₂O (6,5 mmol). Después de completar la adición, se calienta la mezcla de reacción a ta y se agita durante 6 h. Después de retirar el disolvente a vacío, se obtiene 5-aminopicolinato de metilo 2 y se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (m/z) (M+1)⁺: 153,1.

40 **[0136]** Se carga un vial con 5-aminopicolinato de metilo 2 (0,83 mmol), 2-cloro-5-(4-metoxifenil)pirimidina 3 (0,83 mmol), Pd(OAc)₂ (0,124 mmol), xantfos (0,124 mmol), Cs₂CO₃ (0,83 mmol) y 1,4-dioxano anhidro (5 ml). Se hace el vacío en el vial, se rellena con N₂ dos veces y se calienta la mezcla en un horno de microondas a 130°C durante 20 min. Se enfría el vial a ta y se diluye la mezcla de reacción con DCM, se lava con una disolución de NH₄Cl al 10%, salmuera y se seca sobre Na₂SO₄. Se retira el disolvente a vacío y se tritura el producto bruto con AcOEt, proporcionando éster metílico del ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico 4 en forma de un sólido marrón claro. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,62 (s, 1H), 8,93 (s, 2H), 8,83 (s a, 1H), 8,46 (d, J= 8,0 Hz, 1H), 8,27 (d, J =8,0 Hz, 1H), 7,72-7,70 (m, 2H), 7,08-7,06 (m, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,81 (s, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 337,1.

[0137] Se añade LiOH 6 M (1,8 mmol) a una suspensión de éster metílico del ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico **4** (0,3 mmol) en THF:MeOH:H₂O= 3:2:1 (5 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 12 h. Después de ese tiempo, se retira el disolvente a vacío, se diluye el residuo con H₂O (6 ml) y se neutraliza el pH con HCl 6 M. Se recoge el sólido que precipita, se lava con agua y se seca en estufa de vacío durante 12 h, proporcionando ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico **5** en forma de un sólido amarillo, que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (m/z) (M+1)⁺: 323,2.

Ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilnicotínico **10**

10 **[0138]**



[0139] Se añade Pd (al 5% en carbono, 50% húmedo, al 10% en peso) a una disolución de éster etílico del ácido 2-metil-5-nitronicotínico **7** (1,43 mmol) en MeOH (15 ml). Después de purgar, se agita la mezcla de reacción en atmósfera de hidrógeno durante 3 h. Se filtra el disolvente a través de Celite y se lava la torta de Celite con MeOH. Se retira el disolvente a vacío, proporcionando éster etílico del ácido 5-amino-2-metilnicotínico **8** en forma de un sólido amarillo, que se usa sin purificación adicional. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,19 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 6,78 (d, J= 4,0 Hz, 2H), 4,10 (s, 2H), 3,56 (c, J= 8,0 Hz, 2H), 1,80 (s, 3H), 0,59 (t, J= 8,0 Hz, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 182,0.

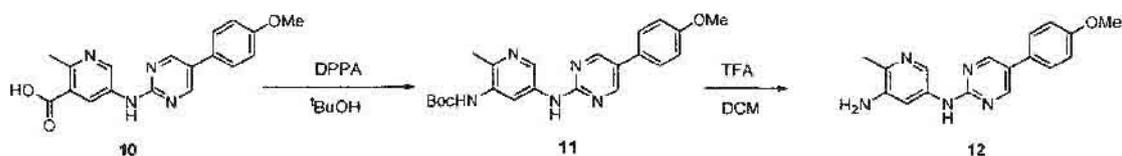
20

[0140] Se carga un vial con éster etílico del ácido 5-amino-2-metilnicotínico **8** (1,25 mmol), 2-cloro-5-(4-metoxifenil)pirimidina **3** (1,25 mmol), Pd(OAc)₂ (0,187 mmol), xantfos (0,187 mmol), Cs₂CO₃ (1,25 mmol) y 1,4-dioxano anhidro (8 ml). Se hace el vacío en el vial, se rellena con N₂ dos veces y se calienta la mezcla en un baño de aceite a 100°C durante 2 h. Se enfría el vial a ta y se diluye la mezcla de reacción con DCM, se lava con una disolución de NH₄Cl al 10%, salmuera y se seca sobre Na₂SO₄. Se retira el disolvente a vacío y se purifica el producto bruto por cromatografía en gel de sílice corto usando DCM:MeCN:MeOH= 8:2,5:0,5, proporcionando éster etílico del ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilnicotínico **9** en forma de un sólido amarillo pálido. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,13 (s, 1H), 9,10 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,94 (s, 2H), 8,78 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 7,79-7,77 (m, 2H), 7,16-7,14 (m, 2H), 4,45 (c, J= 8,0 Hz, 2H), 3,90 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 1,45 (t, J= 8,0 Hz, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 365,1.

[0141] Se añade LiOH (6 M) (2,7 mmol) a una suspensión de éster etílico del ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilnicotínico **9** (0,9 mmol) en THF:MeOH:H₂O= 3:2: 1 (7 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 12 h. Después de este tiempo, se retira el disolvente a vacío, se diluye el residuo con H₂O (6 ml) y se neutraliza el pH con HCl 6 M. Se filtra el sólido formado, se lava con agua y se seca en una estufa a vacío durante 12 h, proporcionando ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilnicotínico **10** en forma de un sólido blanquecino, que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (m/z) (M+1)⁺: 337,2.

N-5-[5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-il]-2-metilpiridin-3,5-diamina **12**

40 **[0142]**



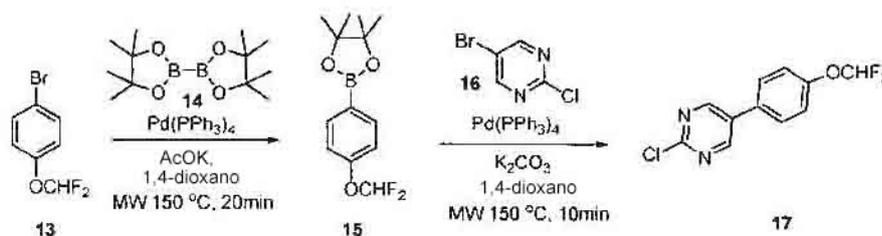
[0143] Se añade TEA (8,3 mmol) a una suspensión de ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-

metilnicotínico **10** (0,59 mmol) en *tert*-BuOH anhidro (15 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 30 min y se añade entonces gota a gota DPPA (8,3 mmol). Después de completar la adición, se calienta el matraz a reflujo durante 4 h. Después de este tiempo, se retira el disolvente a presión reducida y se purifica el residuo oleoso denso mediante HPLC preparativa (gradiente de MeCN 20-90%), proporcionando éster *tert*-butílico del ácido {5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}carbámico **11**. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,22 (s a, 1H), 9,17 (s a, 1H), 8,87 (s, 2H), 8,50 (s a, 1H), 7,70-7,68 (m, 2H), 7,07-7,05 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 1,58 (s, 9H). EM (m/z) (M+1)⁺: 408,1.

[0144] Se disuelve éster *tert*-butílico del ácido {5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}carbámico **11** (0,33 mmol) en DCM (2 ml) y se trata con TFA (3 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 2 h. Se retira el disolvente, proporcionando un residuo sólido blanquecino. Se recoge el residuo con agua, se neutraliza el pH con Na₂CO₃ al 5% y se extrae con DCM:IPA= 3:1 (3 x 40 ml). Se lava la fase orgánica con salmuera y se seca sobre Na₂SO₄. La evaporación del disolvente orgánico a presión reducida proporciona N⁵-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-il]-2-metilpiridin-3,5-diamina **12**, que se usa sin purificación adicional. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,37 (s, 1H), 8,90 (s, 2H), 8,47 (s a, 1H), 7,79 (s a, 1H), 7,71-7,69 (m, 2H), 7,08-7,06 (m, 2H), 6,36 (s a, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,43 (s, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 308,2.

2-Cloro-5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidina **17**

[0145]



[0146] Se añaden bromo-4-(difluorometoxi)benceno **13** (10 mmol), acetato de potasio (30,0 mmol), 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano **14** (11,0 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (0,5 mmol) a un matraz Schlenk de 40 ml equipado con una barra de agitación. Se hace el vacío en el matraz y se rellena con nitrógeno varias veces. Se añade 1,4-dioxano (10 ml) mediante jeringuilla. Se sella el matraz Schlenk y se calienta a 50°C durante 20 min en un horno de microondas. Después de completar la reacción, se retira el disolvente a vacío. Se disuelve el residuo en DCM (200 ml) y se lava con agua. Se seca la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentra, proporcionando un producto bruto. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (AcOEt, hexanos, gradiente de 0-20%) proporciona 2-(4-(difluorometoxi)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano **15**. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,74 (d, J= 8,4 Hz, 2H), 7,02 (d, J= 8,4 Hz, 2H), 6,48 (t, J= 73,6 Hz, 1H), 1,27 (s, 12H). EM (m/z) (M+1)⁺: 271,1.

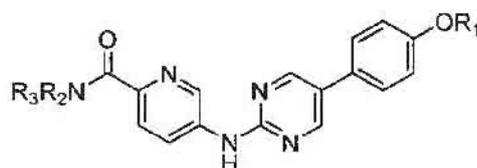
[0147] Se añaden 2-(4-(difluorometoxi)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano **15** (8,9 mmol), K₂CO₃ 1,8 M (16,2 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (0,38 mmol) a una disolución de 5-bromo-2-cloropirimidina **16** (7,7 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml). Se hace el vacío en la reacción y se rellena con nitrógeno dos veces, se calienta entonces a 150°C durante 10 min en un microondas. Después de este tiempo, se diluye la mezcla de reacción con una disolución saturada de NH₄Cl y se extrae con DCM (3 x 50 ml). Se lava la fase orgánica con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice corto usando hexano:AcOEt= 3:1 como eluyente proporciona 2-cloro-5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidina **17**. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,73 (s, 2H), 7,47-7,52 (m, 2H), 7,20-7,24 (m, 2H), 6,52 (t, J= 72 Hz, 1H). EM (m/z) (M+1)⁺: 257,0.

Preparación de compuestos finales

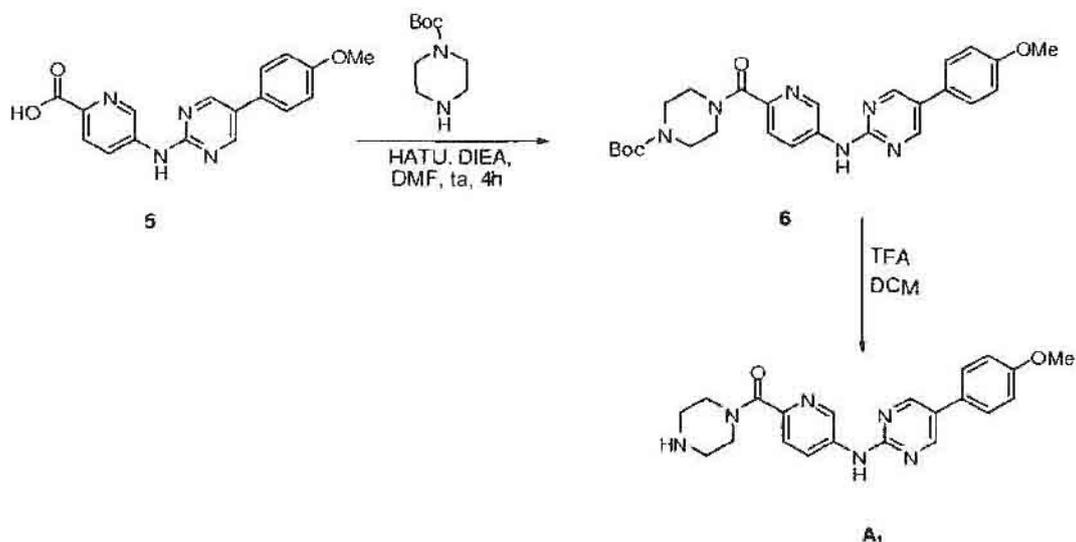
45

Compuestos de tipo A

[0148]



5-[5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-il}piperazin-1-ilmetanona **A1**
[0149]



5

[0150] Se añaden HATU (0,13 mmol) y DIEA (0,36 mmol) a una disolución de ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico **5** (0,12 mmol) en DMF (0,5 ml) a ta. Se agita la mezcla resultante durante 2 min y se añade entonces una disolución de éster *terc*-butílico del ácido piperazin-1-carboxílico (0,12 mmol) en DMF (1 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 4 h y se purifica directamente mediante CLEM preparativa, dando éster *terc*-butílico del ácido 4-[5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carbonil}piperazin-1-carboxílico **6** en forma de un sólido blanco. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,32 (s, 1H), 8,89 (s, 2H), 8,39-8,37 (m, 2H), 7,86 (dd, J= 4,0 y 8,0 Hz, 1H), 7,71-7,69 (m, 2H), 7,08-7,06 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,55-3,51 (m a, 4H), 3,96-3,94 (s a, 4H), 1,42 (s, 9H). EM (m/z) (M+1)⁺: 491,1.

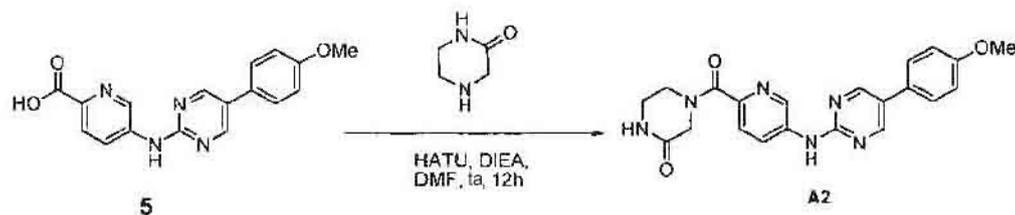
10

[0151] Se disuelve éster *terc*-butílico del ácido 4-[5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carbonil}piperazin-1-carboxílico **6** (0,03 mmol) en DCM (2 ml) y se trata con TFA (2 ml). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 2 h. Se retira el disolvente, proporcionando un residuo sólido blanquecino que se lava varias veces con AcOEt, proporcionando la 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-il}piperazin-1-ilmetanona **A1** deseada en forma de un sólido blanco. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,30 (s, 1H), 9,13 (s a, 2H), 8,98 (d, J= 4,0 Hz, 2H), 8,88 (s, 1H), 8,43 (dd, J= 4,0 y 8,0 Hz, 1H), 7,73 (d, J= 8,0 Hz, 1H), 7,71-7,69 (m, 2H), 7,08-7,06 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,73 (s a, 4H), 3,20 (s a, 4H). EM (m/z) (M+1)⁺: 391,1.

20

4-[5-[5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carbonil}piperazin-2-ona **A2**
[0152]

25



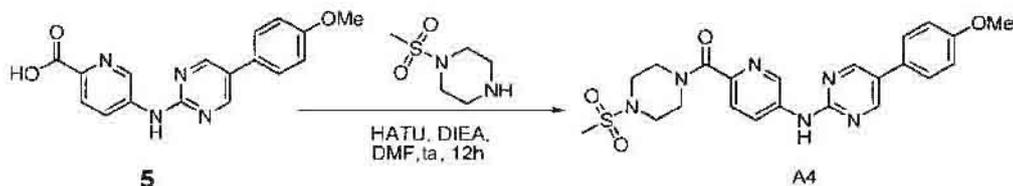
5

A2

[0153] Se añaden HATU (0,06 mmol) y DIEA (0,14 mmol) a ta a una disolución de ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carboxílico **5** (0,05 mmol) en DMF (1 ml). Se agita la mezcla resultante durante 2 min y se añade entonces piperazin-2-ona (0,05 mmol). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 12 h y se purifica entonces directamente mediante CLEM preparativa, dando 4-[5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-carbonil}piperazin-2-ona **A2** en forma de un sólido blanco. RMN-¹H (400 MHz, CH₃OH-d₄) δ 8,98 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,53-8,52 (m, 2H), 7,74-7,73 (m, 2H), 7,58-7,56 (m, 2H), 7,07-7,05 (m, 2H), 3,94 (s a, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,46 (s a, 2H), 3,45 (s, 2H). EM (m/z) (M+1)⁺: 405,2.

35

(4-Metanosulfonilpiperazin-1-il)-{5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]piridin-2-il}metanona **A4**
[0154]

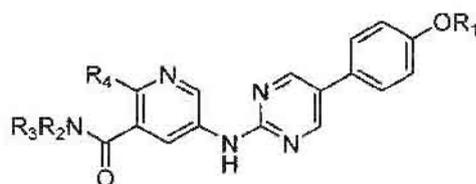


5

[0155] Se prepara siguiendo el procedimiento descrito para **A2**. RMN-¹H (400 MHz, CH₃OH-d₄) δ 9,00 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,77 (s, 2H), 8,52 (dd, J= 4,0 y 8,0 Hz, 1H), 7,68 (d, J= 8,0 Hz, 1H), 7,59-7,57 (m, 2H), 7,08-7,06 (m, 2H), 3,90 (s a, 4H), 3,83 (s, 3H), 7,79 (s a, 4H), 2,89 (s, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 469,2.

10 Compuestos de tipo B.

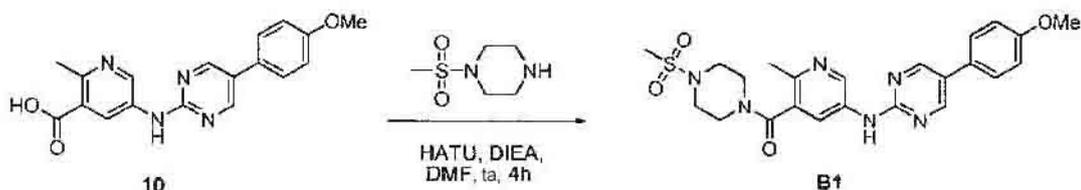
[0156]



15 (4-Metanosulfonilpiperazin-1-il)-{5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}metanona

B1

[0157]

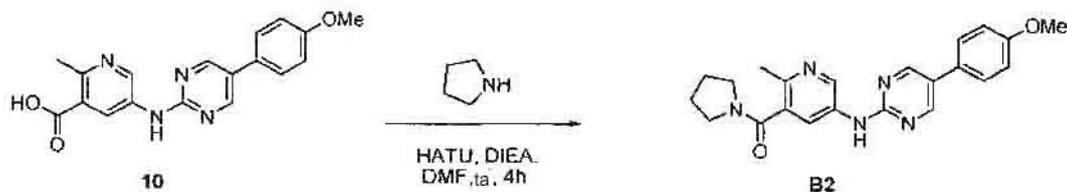


20

[0158] Se añaden HATU (0,06 mmol) y DIEA (0,14 mmol) a ta a una disolución de ácido 5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilnicotínico **10** (0,05 mmol) en DMF (1 ml). Se agita la mezcla resultante durante 2 min y se añade entonces 1-metanosulfonilpiperazina (0,05 mmol). Se agita la mezcla de reacción a ta durante 4 h y se purifica entonces directamente mediante CLEM preparativa, dando (4-metanosulfonilpiperazin-1-il)-{5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}metanona **B1**. RMN-¹H (400 MHz, CH₃OH-d₄) δ 9,30 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,81 (s, 2H), 8,50 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 7,60-7,758 (m, 2H), 7,07-7,05 (m, 2H), 3,96-3,94 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,54-3,52 (m, 2H), 3,42-3,39 (m, 2H), 3,27 (s a, 2H), 2,91 (s, 3H), 2,62 (s, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 483,1.

(5-(5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-ilamino)-2-metilpiridin-3-il)(pirrolidin-1-il)metanona **B2**

30 **[0159]**



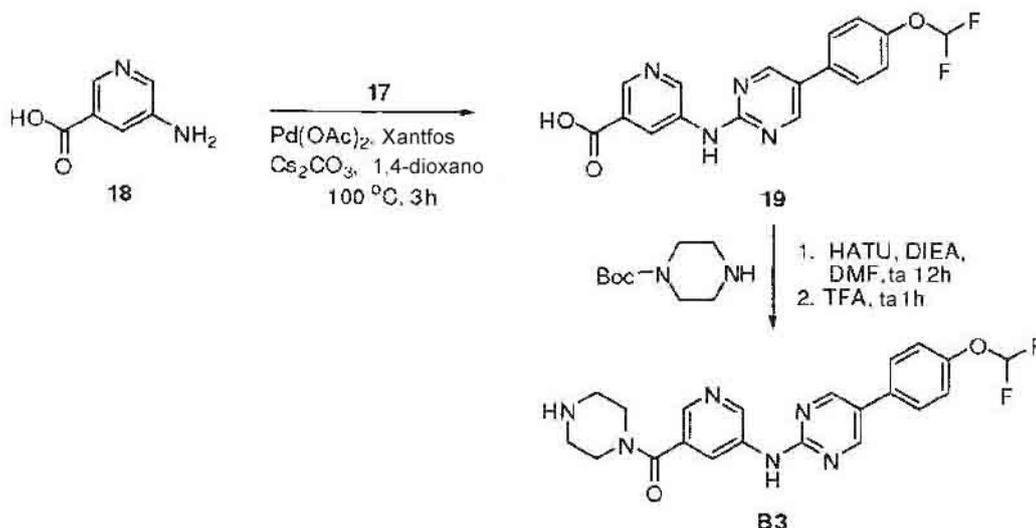
[0160] Se prepara como se describe para **B1**. RMN-¹H (400 MHz, CH₃OH-d₄) δ 9,44 (s a, 1H), 8,84 (s, 2H), 8,58 (s a, 1H), 7,60-7,58 (m, 2H), 7,08-7,05 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,86 (t, J= 4,0 Hz, 2H), 3,38 (t, J= 4,0 Hz, 2H), 2,66

(s, 3H), 2,06-2,00 (m, 4H). EM (m/z) (M+1)⁺: 490,1.

(5-(5-(4-(Difluorometoxi)fenil)pirimidin-2-ilamino)piridin-3-il)(piperazin-1-il)metanona B3

[0161]

5

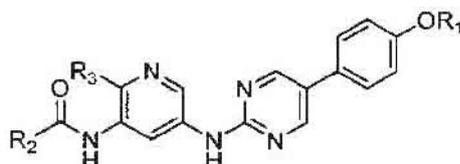


[0162] Se carga un vial con ácido metil-5-aminonicotínico **18** (1,45 mmol), 2-cloro-5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidina **17** (1,45 mmol), Pd(OAc)₂ (0,22 mmol), xantfos (0,22 mmol), Cs₂CO₃ (1,45 mmol) y 1,4-dioxano anhidro (5 ml). Se hace el vacío en el vial, se rellena con N₂ dos veces y se calienta la mezcla en un baño de aceite a 100°C durante 3 h. Se enfría el vial a ta, se diluye la mezcla de reacción con agua (20 ml) y se neutraliza el pH con Na₂CO₃ al 10%. Se extrae la suspensión resultante con DCM:IPA= 3:1 (3 x 50 ml). Se lava la fase orgánica una vez con salmuera y se seca sobre Na₂SO₄. Se retira el disolvente a vacío y se purifica el producto bruto mediante HPLC preparativa (MeCN, gradiente de 20-70%), proporcionando ácido 5-(5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidin-2-ilamino)nicotínico **19**. EM (m/z) (M+1)⁺: 359,1.

[0163] Se añaden HATU (0,033 mmol) y DIEA (0,084 mmol) a ta a una disolución de ácido 5-(5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidin-2-ilamino)nicotínico **19** (0,028 mmol) en DMF (1 ml). Se agita la mezcla resultante durante 2 min y se añade entonces N-boc-piperazina (0,03 mmol). Se agita la mezcla de reacción a ta 12 h y se purifica directamente mediante CLEM preparativa, dando 4-(5-(5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidin-2-ilamino)nicotinoil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo. Se trata el residuo con TFA (1 ml) a ta durante 1 h, se concentra a vacío y se purifica directamente mediante CLEM preparativa, proporcionando (5-(5-(4-(difluorometoxi)fenil)pirimidin-2-ilamino)piridin-3-il)(piperazin-1-il)metanona **B3**. RMN-¹H (400 MHz, CH₃CN-d₃) δ 9,32 (s a, 1H), 8,86 (s, 2H), 8,67 (s a, 1H), 8,41 (s a, 1H), 7,75 (d, J= 12,0 Hz, 2H), 7,33 (d, J= 12,0 Hz, 2H), 6,87 (t, J= 73 Hz, 1H), 4,20 (s a, 4H), 3,30 (s a, 4H). EM (m/z) (M+1)⁺: 427,1.

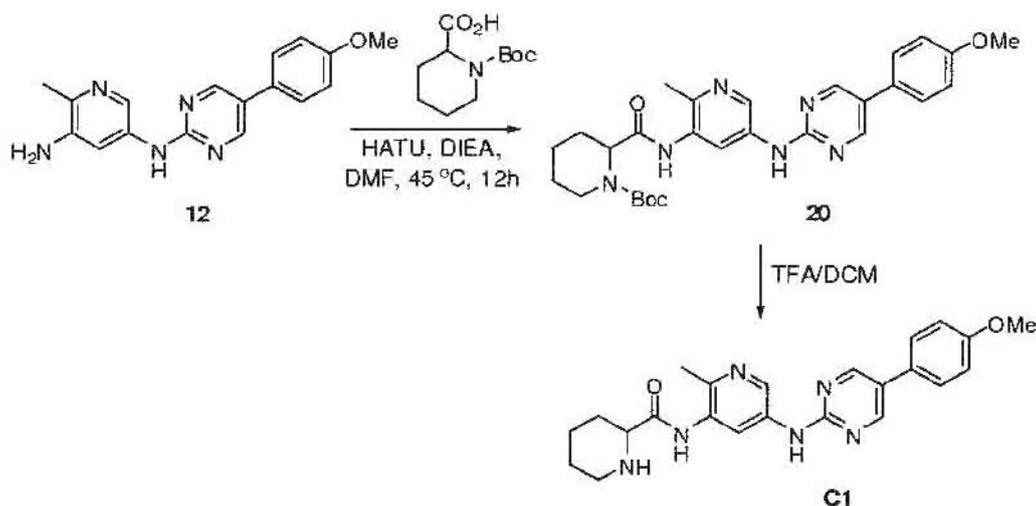
Compuestos de tipo C

[0164]



30

{5-[5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}amida del ácido piperidin-2-carboxílico **C1**
[0165]

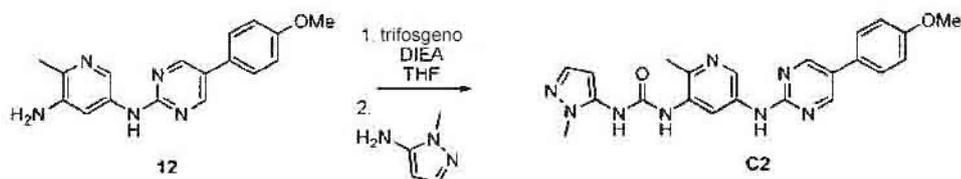


5

[0166] Se añaden HATU (0,05 mmol) y DIEA (20,12 mmol) a una disolución de éster 1-*terc*-butílico del ácido piperidin-1,2-dicarboxílico (0,04 mmol) en DMF (1 ml). Se agita la mezcla resultante durante 2 min a ta y se añade entonces *N*^o-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-il]-2-metilpiridin-3,5-diamina **12** (0,032 mmol). Se agita la mezcla de reacción a 45°C durante 12 h. Se enfría la mezcla y se purifica directamente mediante CLEM preparativa,
 10 proporcionando éster *terc*-butílico del ácido 2-[5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il]carbamóil]piperidin-1-carboxílico **20**. EM (m/z) (M+1)⁺: 519,1.

[0167] Se disuelve éster *terc*-butílico del ácido 2-[5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il]carbamóil]piperidin-1-carboxílico **20** en DCM (1 ml) y se añade TFA (2 ml). Se agita la disolución amarilla a ta durante 2 h. Se retiran el disolvente y el exceso de TFA a vacío y se purifica el residuo mediante CLEM preparativa,
 15 proporcionando {5-[5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino]-2-metilpiridin-3-il}-amida del ácido piperidin-2-carboxílico **C1**. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, RMN-¹H (400 MHz, CH₃OH-*d*₄) δ 9,27 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,85 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 8,80 (s, 2H), 7,59-7,57 (m, 2H), 7,06-7,06 (m, 2H), 4,14 (dd, J= 4,0 y 12,0 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,52-3,48 (m, 1H), 3,15-3,12 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,45-2,44 (m, 1H), 2,07-2,06 (m, 1H), 1,98-1,95 (m, 1H), 1,89-1,85 (m, 1H), 1,79-1,75 (m, 2H). EM (m/z) (M+1)⁺: 419,2.

1-5-(5-(4-Metoxifenil)pirimidin-2-ilamino)-2-metilpiridin-3-il)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)urea **C2**
[0168]



25

[0169] Se añaden trifosgeno (0,02 mmol) y DIEA (0,01 mmol) a una disolución de *N*-(5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-il)-6-metilpiridin-3,5-diamina **12** (0,06 mmol) en THF (2 ml). Se agita la reacción a ta durante 15 min, se añade entonces 1-metil-1*H*-pirazol-5-amina (0,1 mmol) y se continúa la agitación durante 2 h. Se reduce la reacción hasta sequedad y se purifica mediante cromatografía en gel de sílice con DCM:MeOH= 95:5 como eluyente,
 30 proporcionando 1-(5-(5-(4-metoxifenil)pirimidin-2-ilamino)-2-metilpiridin-3-il)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)urea **C2** en forma de un sólido blanco. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,72 (d, J= 2,0 Hz, 1H), 8,70 (s, 2H), 8,60 (d, J= 2,0 Hz, 1H), 7,54 (d, J= 6,5 Hz, 2H), 7,40 (d, J= 2,0 Hz, 1H), 7,03 (d, J= 6,5 Hz, 2H), 6,28 (d, J= 2,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 2,49 (s, 3H). EM (m/z) (M+1)⁺: 431,2.

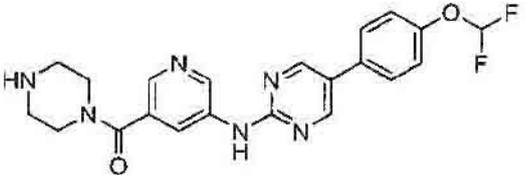
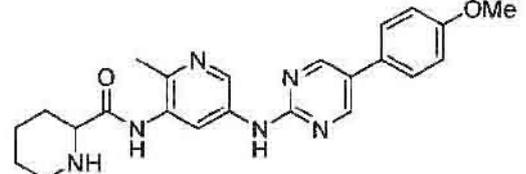
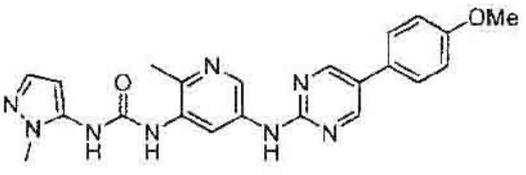
35

[0170] La Tabla 1 describe compuestos representativos de la invención, preparados siguiendo los procedimientos descritos anteriormente. Los compuestos de la Tabla 1 tienen una actividad < 2,5 μM en el ensayo Mo7e de c-kit y/o el ensayo TG-HA-VSMC de PDGFR.

Tabla 1

Nº de ejemplo	Estructura	EM [M+1] ⁺
A1		391,1
A2		405,2
A3		440,2
A4		469,2
A5		434,1
B1		483,1
B2		490,1

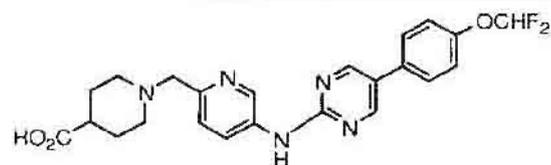
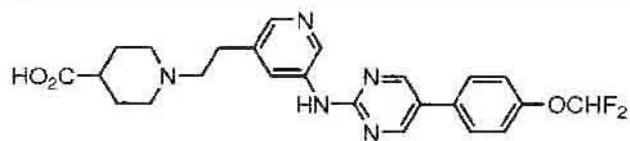
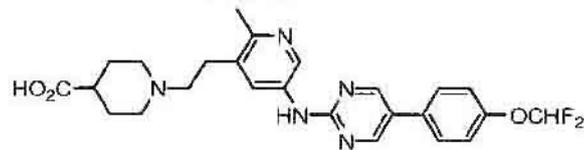
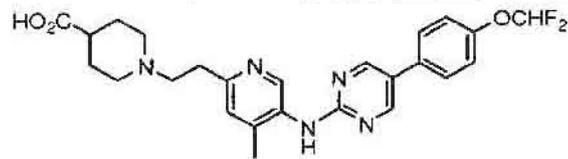
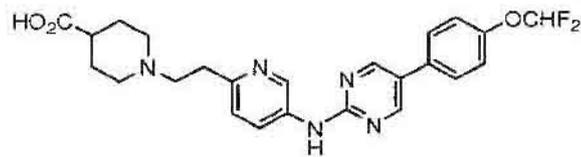
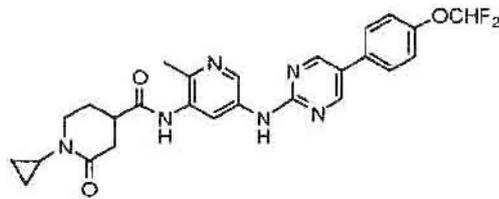
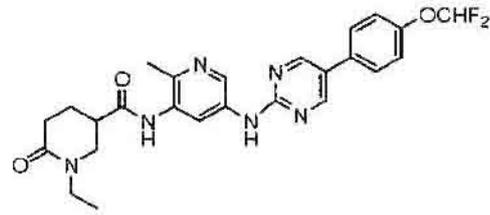
(continúa)

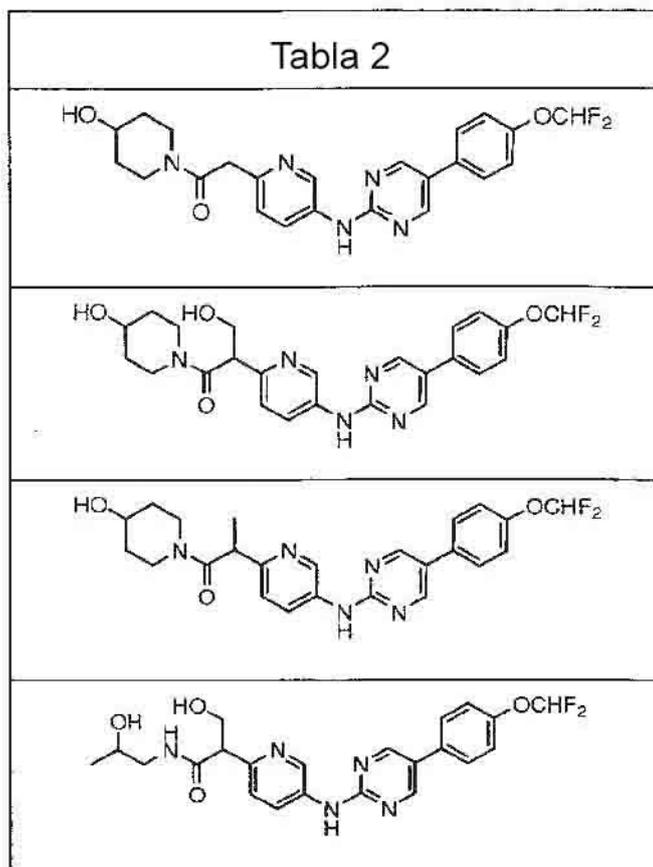
Nº de ejemplo	Estructura	EM [M+1] ⁺
B3		427,1
C1		419,2
C2		431,2

5

[0171] La Tabla 2 muestra otros representantes de la invención, que pueden prepararse siguiendo los siguientes procedimientos generales descritos en los ejemplos.

Tabla 2





Ensayos

- 5 **[0172]** Los compuestos de la presente invención se ensayan para medir su capacidad de inhibir selectivamente la proliferación de células Ba/F3 naturales y células Ba/F3 transformadas con las tirosina cinasas fusionadas Tel/cinasa c-kit y Tel/PDGFR. Además, los compuestos de la invención pueden inhibir selectivamente la proliferación dependiente de SCF de células Mo7e. Adicionalmente, se ensayan los compuestos para medir su capacidad de inhibir las cinasas Ab1, ARG, BCR-Abl, BRK, EphB, Fms, Fyn, KDR, c-Kit, LCK, PDGF-R, b-Raf, c-
10 Raf, SAPK2, Src, Tie2 y TrkB.

Ensayo de proliferación: Protocolo de lectura de la colección de BaF3- Bright GLO

- [0173]** Se ensaya la capacidad de los compuestos de inhibir la proliferación de células wt Ba/F3 y células
15 Ba/F3 transformadas con tirosina cinasas fusionadas con Tel. Se mantienen las células Ba/F3 no transformadas en medio que contiene IL-3 recombinante. Se siembran las células en placas TC de 384 pocillos a 5.000 células en 50 μ l de medio por pocillo y se añade compuesto de ensayo de 0,06 nM a 10 μ M. Se incuban entonces las células durante 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Después de incubar las células, se añaden 25 μ l de BRIGHT GLO® (Promega) a cada pocillo siguiendo las instrucciones del fabricante y se leen las placas usando Analyst GT – modo
20 luminiscencia – tiempo de integración 50000 en ULR. Se determinan los valores de CI₅₀ a partir de una curva de respuesta a la dosis.

Ensayo de Mo7e

- 25 **[0174]** Se ensaya en los compuestos descritos en la presente memoria la inhibición de la proliferación dependiente de SCF usando células Mo7e que expresan endógenamente c-kit en un formato de 96 pocillos. Se evalúa en compuestos de ensayo diluidos dos veces en serie (C_{máx} = 10 μ M) su actividad antiproliferativa sobre células Mo7e estimuladas con SCF recombinante humano. Después de 48 horas de incubación a 37°C, se mide la viabilidad celular usando un ensayo colorimétrico MTT de Promega.

30

Protocolo HTRF de c-kit

- [0175]** Se añade una alícuota (5 μ l) de una concentración 2x de una mezcla de enzima c-kit de 25 ng de c-kit (5 ng/ μ l) y péptido biotina-EEEPQYEEIPIYLELLP-NH₂ 2 μ M en tampón de cinasa (Tris 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 10

mM, 0,01% de BSA, 0,1% de Brij35, DTT 1 mM, 5% de glicerol, Na₃VO₄ 0,05 mM) a cada pocillo de una Proxiplate 384 (Packard). Cada pocillo de la última fila de la Proxiplate tiene 5 µl de mezcla enzimática c-kit sin c-kit para evaluar el nivel de fondo. Se añaden los compuestos de la invención a cada pocillo y se incuban las placas durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añaden 2x ATP (40 µM) en tampón cinasa (5 µl) a cada pocillo y se incuban la placa a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añaden mezcla de detección (50% de KF, 40% de tampón de cinasa, 10% de EDTA, Mab PT66-K (nº de cat. 61T66KLB) diluido 1:100 y Streptavidin-XL (nº de cat. 611SAXLB) diluido 1:100 (10 µl) a cada pocillo y se incuban adicionalmente las placas durante 1 a 2 horas a temperatura ambiente. Se lee entonces la señal de HTRF en un detector.

10 Ensayo de proliferación de TG-HA-VSMC

[0176] Se cultivan células TG-HA-VSMC humanas (ATCC) en DMEM suplementado con 10% de FBS hasta 80-90% de confluencia antes de resuspender en DMEM suplementado con 1% de FBS y PDGF-BB recombinante humano 30 ng/ml a 6x 10⁴ células/ml. Se toman entonces alícuotas de las células en placas de 384 pocillos a 50 µl/pocillo, se incuban durante 20 h a 37°C y se tratan entonces con 0,5 µl de compuestos 100x durante 48 h a 37°C. Después del tratamiento, se añaden 25 µl de CellTiter-Glo a cada pocillo durante 15 minutos y se leen entonces las placas en CLIPR (Molecular Devices).

20 Protocolo de ensayo Lance de PDGFRα/β

[0177] Se añade una alícuota (2,5 µl) de una concentración 2x de péptido PDGFRβ y mezcla de ATP (péptido biotina-βA-βA-βA-AEEEEYVFIEAKKK 4 µM, ATP 20 µM en tampón de ensayo (Hepes 20 mM, MgCl₂ 54 mM, 0,01% de BSA, 0,05% de Tween-20, DTT 1 mM, 10% de glicerol, Na₃VO₄ 50 µM)) a cada pocillo de una Proxiplate 384 (Packard). Se centrifugan las placas y se añaden los compuestos de la invención (50 nl) a cada pocillo mediante un dispensador de aguja. Se añaden a cada pocillo (2,5 µl) de una concentración 2x mezcla enzimática (PDGFRα 4,5 ng/µl (nº de cat. PV4117) o PDGFRβ 1,5 ng/µl (nº de cat. PV3591) en tampón de ensayo) o tampón de ensayo solo sin enzima PDGFRα/β. Se incuban las placas durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Se añade mezcla de detección (5 µl; 50% de KF 1 M, 40% de tampón cinasa, 10% de EDTA, Mab PT66-K (nº de cat. 61T66KLB) diluido 1:100 y Streptavidin-XL (nº de cat. 611SAXLB) diluido 1:100 a cada pocillo y se incuban la Proxiplate durante 1 hora a temperatura ambiente antes de leer la señal de HTRF en un detector.

Ensayo de proliferación de Ba/F3 FL FLT3

[0178] La línea celular de murido usada es la línea celular Ba/F3 pro-B de murido, que sobreexpresa la construcción FLT3 completa. Se mantienen estas células en RPMI 1640/10% de suero fetal bovino (RPMI/FBS) suplementado con penicilina 50 µg/ml, estreptomycin 50 µg/ml y L-glutamina 200 mM, con la adición de IL-3 de murido recombinante. Las células Ba/F3 con FLT3 completa experimentan carencia de IL-3 durante 16 horas y se siembran entonces en placas TC de 384 pocillos a 5.000 células en 25 µl de medio por pocillo y se añade compuesto de ensayo de 0,06 nM a 10 µM. Después de la adición del compuesto, se añaden ligando de FLT3 o IL-3 para el control de citotoxicidad en 25 µl de medio por pocillo a las concentraciones apropiadas. Se incuban entonces las células durante 48 horas a 37°C y 5% de CO₂. Después de incubar las células, se añaden 25 µl de BRIGHT GLO® (Promega) a cada pocillo siguiendo las instrucciones del fabricante y se leen las placas usando Analyst GT – modo de luminiscencia– tiempo de integración 50000 en ULR.

45 Inhibición de la proliferación dependiente de BCR-Ab1 celular (procedimiento de alto rendimiento)

[0179] La línea celular de murido usada es la línea celular progenitora hematopoyética 32D transformada con ADNc de BCR-Ab1 (32Dp210). Se mantienen estas células en RPMI/10% de suero fetal de ternero (RPMI/FCS) suplementado con penicilina 50 µg/ml, estreptomycin 50 µg/ml y L-glutamina 200 mM. Se mantienen de forma similar las células 32D no transformadas con la adición de un 15% de medio acondicionado WEHI como fuente de IL-3.

[0180] Se siembran 50 µl de una suspensión de células 32D o 32D-p210 en microplacas de 384 pocillos Greiner (negras) a una densidad de 5000 células por pocillo. Se añaden 50 nl de compuesto de ensayo (1 mM en disolución madre de DMSO) a cada pocillo (STI571 se incluye como control positivo). Se incuban las células durante 72 horas a 37°C y 5% de CO₂. Se añaden 10 µl de una disolución de Alamar Blue al 60% (Tek diagnostics) a cada pocillo y se incuban las células durante 24 horas adicionales. Se cuantifica la intensidad de fluorescencia (excitación a 530 nm, emisión a 580 nm) usando el sistema Acquest™ (Molecular Devices).

60 Inhibición de la proliferación dependiente de BCR-Ab1 celular

[0181] Se siembran células 32D-p210 en placas TC de 96 pocillos a una densidad de 15.000 células por pocillo. Se añaden 50 µl de diluciones dobles en serie del compuesto de ensayo (la C_{máx} es 40 µM) a cada pocillo (STI571 se incluye como control positivo). Después de incubar las células durante 48 horas a 37°C y 5% de CO₂, se añaden 15 µl de MTT (Promega) a cada pocillo y se incuban las células durante 5 horas adicionales. Se cuantifica espectrofotométricamente la densidad óptica a 570 nm y se determinan los valores de CI₅₀ a partir de una curva de

respuesta a la dosis.

Efecto sobre la distribución del ciclo celular

- 5 **[0182]** Se siembran células 32D y 32D-p210 en placas TC de 6 pocillos a $2,5 \times 10^6$ células por pocillo en 5 ml de medio y se añade un compuesto de ensayo 1 o $10 \mu\text{M}$ (STI571 se incluye como control). Se incuban entonces las células durante 24 o 48 horas a 37°C y 5% de CO_2 . Se lavan 2 ml de suspensión celular con PBS, se fijan con EtOH al 70% durante 1 hora y se tratan con PBS/EDTA/ARNasa A durante 30 minutos. Se añade yoduro de propidio (Cf= $10 \mu\text{g/ml}$) y se cuantifica la intensidad de fluorescencia mediante citometría de flujo en un sistema FACScalibur™ (BD Biosciences). Los compuestos de ensayo de la presente invención demuestran un efecto apoptótico sobre las células 32D-p210, pero no inducen la apoptosis en las células parentales 32D.

Efecto sobre la autofosforilación de BCR-Ab1 celular

- 15 **[0183]** Se cuantifica la autofosforilación de BCR-Ab1 con ELISA de captura usando un anticuerpo de captura específico de c-abl y un anticuerpo antifosfotirosina. Se siembran placas 32D-p210 en placas TC de 96 pocillos a 2×10^5 células por pocillo en 5 μl de medio. Se añaden 50 μl de diluciones dobles en serie de los compuestos de ensayo (la $C_{\text{máx}}$ es $10 \mu\text{M}$) a cada pocillo (STI571 se incluye como control positivo). Se incuban las células durante 90 minutos a 37°C y 5% de CO_2 . Se tratan entonces las células durante 1 hora sobre hielo con 150 μl de tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, EGTA 1 mM y 1% de NP-40) que contiene inhibidores de proteasa y fosfatasa. Se añaden 50 μl de lisado celular a Optiplates de 96 pocillos recubiertas previamente con anticuerpo específico anti-ab1 y se bloquea. Se incuban las placas durante 4 horas a 4°C . Después de lavar con tampón TBS-Tween 20, se añaden 50 μl de anticuerpo antifosfotirosina conjugado con fosfatasa alcalina y se incuban adicionalmente la placa durante una noche a 4°C . Después de lavar con tampón TBS-Tween 20, se añaden 90 μl de un sustrato luminiscente y se cuantifica la luminiscencia usando el sistema Acquest™ (Molecular Devices). Los compuestos de ensayo de la invención que inhiben la proliferación de células que expresan BCR-Ab1 expresan la autofosforilación de BCR-Ab1 celular de manera dependiente de la dosis.

Efecto sobre la proliferación de células que expresan formas mutantes de Bcr-ab1

- 30 **[0184]** Se ensaya en los compuestos de la invención su efecto antiproliferativo sobre células Ba/F3 que expresan el tipo natural o las formas mutantes de BCR-Ab1 (G250E, E255V, T315I, F317L, M351T) que confieren resistencia o sensibilidad reducida a STI571. Se ensaya el efecto antiproliferativo de estos compuestos sobre células que expresan BCR-Ab1 mutantes y sobre células no transformadas a 10, 3,3, 1,1 y $0,37 \mu\text{M}$, como se describe anteriormente (en medio carente de IL-3). Se determinan los valores de CI_{50} de los compuestos carentes de toxicidad sobre las células no transformadas a partir de las curvas de respuesta a la dosis obtenidas como se describe anteriormente.

FGFR3 (ensayo enzimático)

- 40 **[0185]** Se lleva a cabo el ensayo de actividad cinasa con FGFR3 purificado (Upstate) a un volumen final de 10 μl que contiene 0,25 $\mu\text{g/ml}$ de enzima en tampón de cinasa (Tris-HCl 30 mM pH 7,5, MgCl_2 15 mM, MnCl_2 4,5 mM, Na_3VO_4 15 μM y BSA 50 $\mu\text{g/ml}$) y sustratos (biotina-poli-EY(Glu, Tyr) 5 $\mu\text{g/ml}$ (CIS-US, Inc.) y ATP 3 μM). Se prepararon dos disoluciones: la primera disolución de 5 μl que contiene la enzima FGFR3 en tampón de cinasa se dispensa en primer lugar a Proxiplate® de formato de 384 pocillos (Perkin-Elmer) seguido de la adición de 50 nl de compuestos disueltos en DMSO. Se añaden entonces 5 μl de la segunda disolución que contiene el sustrato (poli-EY) y ATP en tampón de cinasa a cada pocillo. Se incuban las reacciones a temperatura ambiente durante 1 hora, se detienen añadiendo 10 μl de mezcla de detección de HTRF, que contiene Tris-HCl 30 mM, pH 7,5, KF 0,5 M, EDTA 50 μM , BSA 0,2 mg/ml, Streptavidin-XL665 15 mg/ml (CIS-US, Inc.) y anticuerpo antifosfotirosina conjugado con criptato 150 ng/ml (CIS-US, Inc.). Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente para permitir la interacción estreptavidina-biotina, se leen las señales fluorescentes resueltas en AnalystGT (Molecular Devices Corp.). Se calculan los valores de CI_{50} mediante análisis de regresión lineal de la inhibición porcentual de cada compuesto a 12 concentraciones (dilución 1:3 de $50 \mu\text{M}$ a 0,28 nM). En este ensayo, los compuestos de la invención tienen una CI_{50} en el intervalo de 10 nM a 2 μM .

55 FGFR3 (ensayo celular)

- [0186]** Se ensaya en los compuestos de la invención su capacidad de inhibir la proliferación de células Ba/F3-TEL-FGFR3 transformadas, que depende de la actividad cinasa celular de FGFR3. Se cultivan Ba/F3-TEL-FGFR3 hasta 800.000 células/ml en suspensión, se suplementan con RPMI 1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino como medio de cultivo. Se dispensan células en una placa de formato de 384 pocillos a 5000 células/pocillo en 50 μl de medio de cultivo. Se disuelven los compuestos de la invención y se diluyen en dimetilsulfóxido (DMSO). Se preparan 12 puntos de diluciones en serie 1:3 con DMSO para crear concentraciones en gradiente en el intervalo típicamente de 10 mM a 0,05 μM . Se añaden a las células 50 nl de compuestos diluidos y se incuban durante 48 horas en incubador de cultivo celular. Se añade a las células AlamarBlue® (TREK Diagnostic Systems), que puede usarse para controlar el entorno reductor creado por las células proliferantes, a una concentración final de un 10%.

Después de 4 horas adicionales de incubación en un incubador de cultivo celular a 37°C, se cuantifican las señales de fluorescencia de AlamarBlue® reducido (excitación a 530 nm, emisión a 580 nm) en un Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Se calculan los valores de CI_{50} mediante análisis de regresión lineal de la inhibición porcentual de cada compuesto a 12 concentraciones.

5

Ensayo enzimático de b-Raf

[0187] Se ensaya en los compuestos de la invención su capacidad de inhibir la actividad de b-Raf. Se lleva a cabo el ensayo en placas MaxiSorp de 384 pocillos (NUNC) con paredes negras y el fondo transparente. Se diluye el sustrato IκBα en DPBS (1:750) y se añaden 15 μl a cada pocillo. Se incuban las placas a 4°C durante una noche y se lavan 3 veces con TBST (Tris 25 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM y 0,05% de Tween-20) usando el lavador de placas EMBLA. Se bloquean las placas con Superblock (15 μl/pocillo) durante 3 horas a temperatura ambiente, se lavan 3 veces con TBST y se secan agitando. Se añaden tampón de ensayo que contiene ATP 20 μM (10 μl) a cada pocillo, seguido de 100 nI o 500 nI de compuesto. Se diluye B-raf en el tampón de ensayo (1 μl en 25 μl) y se añaden 10 μl de b-Raf diluido a cada pocillo (0,4 μg/pocillo). Se incuban las placas a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Se detiene la reacción de cinasa lavando las placas 6 veces con TBST. Se diluye anticuerpo fosfo-IκBα (Ser32/36) en Superblock (1:10.000) y se añaden 15 μl a cada pocillo. Se incuban las placas a 4°C durante una noche y se lavan 6 veces con TBST. Se diluye IgG de cabra anti-ratón conjugado con AP en Superblock (1:1.500) y se añaden 15 μl a cada pocillo. Se incuban las placas a temperatura ambiente durante 1 hora y se lavan 6 veces con TBST. Se añaden 15 μl de sustrato fluorescente Attophos AP (Promega) a cada pocillo y se incuban las placas a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se leen las placas en un Acquest o Analyst GT usando un programa de intensidad de fluorescencia (excitación 455 nm, emisión 580 nm).

Ensayo celular de b-Raf

25

[0188] Se ensaya en los compuestos de la invención su capacidad de inhibir la fosforilación de MEK en células A375. La línea celular A375 (ATCC) deriva de un paciente de melanoma humano y tiene una mutación V599E en el gen B-Raf. Los niveles de MEK fosforilada son elevados debido a la mutación de B-Raf. Se incuban las células A375 de subconfluentes a confluentes con compuestos durante 2 horas a 37°C en medio exento de suero. Se lavan entonces las células una vez con PBS frío y se lisan con tampón de lisis que contiene 1% de Triton X100. Después de la centrifugación, se someten los sobrenadantes a PAGE-SDS y se transfieren entonces a membranas de nitrocelulosa. Se someten entonces las membranas a transferencia Western con anticuerpo anti-fosfo-MEK (ser217/221) (Cell Signaling). Se controla la cantidad de MEK fosforilada mediante la densidad de las bandas de fosfo-MEK en las membranas de nitrocelulosa.

35

Upstate KinaseProfiler™ - Ensayo de unión a filtro radioenzimático

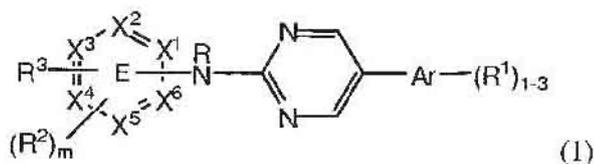
[0189] Se valora en los compuestos de la invención su capacidad de inhibir miembros individuales del panel de cinasas. Se ensayan los compuestos por duplicado a una concentración final de 10 μM siguiendo este protocolo genérico. Se mezclan tampón de cinasa (2,5 μl, 10x – que contiene MnCl₂ cuando es necesario), cinasa activa (0,001-0,01 unidades; 25 μl), péptido específico o Poli(Glu4-Tyr) (5-500 μM o 0,01 mg/ml) en tampón de cinasa y tampón de cinasa (50 μM; 5 μl) en un tubo Eppendorf en hielo. Se añaden una mezcla de Mg/ATP (10 μl; MgCl₂ 67,5 (o 33,75) mM, ATP 450 (o 225) μM y 1 μCi/μl [γ -³²P]-ATP (3000 Ci/mmol)), y se incuba la reacción aproximadamente a 30°C durante aproximadamente 10 minutos. Se puntea la mezcla de reacción (20 μl) sobre un P81 de 2 cm x 2 cm (fosfocelulosa, para sustratos peptídicos cargados positivamente) o un cuadrado de papel Whatman n° 1 (para el sustrato peptídico poli(Glu4-Tyr)). Los cuadrados de ensayo se lavan 4 veces, durante 5 minutos cada uno, con ácido fosfórico al 0,75% y se lavan una vez con acetona durante 5 minutos. Se transfieren los cuadrados de ensayo a un vial de centelleo, se añaden 5 μl de cóctel de centelleo y se cuantifica la incorporación de ³²P (cpm) al sustrato peptídico con un contador de centelleo Beckman. Se calcula la inhibición porcentual para cada reacción.

50

[0190] Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en la presente memoria son solo con fines ilustrativos y que se sugerirán por especialistas en la materia diversas modificaciones o cambios a la vista de la misma.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1):



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

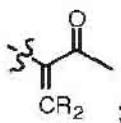
en la que 1-4 X¹, X², X³, X⁴, X⁵ y X⁶ son N y los otros son CR³, y el anillo E está unido a NR, R² y R³ por un átomo de carbono;

Ar es un arilo o heteroarilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido, a condición de que Ar no sea imidazolilo;

R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con grupos halógeno, amino o hidroxilo; halógeno, ciano, nitro, (CR₂)_kOR⁷, (CR₂)_kO(CR₂)₁₋₄R⁷, (CR₂)_kSR⁷, (CR₂)_kNR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, OC(O)R⁷, (CR₂)_kC(S)R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁹R¹⁰, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸, (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kR⁶ o dos grupos R₂ adyacentes cualquiera junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un anillo arilo o heteroarilo carbocíclico o heterocíclico de 5-8 miembros opcionalmente sustituido;

20

R³ es -L-NR⁴R⁵, -X-NR-C(O)R⁸ o -X-NR-C(O)NR⁴R⁵, en los que L es -X-C(O), -X-OC(O), -SO₀₋₂(CR₂)_j, (CR₂)₁₋₄, -O(CR₂)₁₋₄, o



25

y X es (CR₂)_j o [C(R)(CR₂OR)];

R⁴, R⁵, R⁹ y R¹⁰ son independientemente H; alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; (CR₂)_kCN, (CR₂)₁₋₆NR⁷R⁷, (CR₂)₁₋₆OR⁷, (CR₂)_kC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷ o (CR₂)_k-R⁶;

30

R⁶ es un cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ o un anillo heteroarílico de 5-10 miembros o heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido;

R⁷ y R⁸ son independientemente (CR₂)_k-R⁶ o alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, amido, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; o R⁷ es H;

35

como alternativa, R⁴ y R⁵ junto con N en cada NR⁴R⁵, R⁷ y R⁷ junto con N en NR⁷R⁷ o R⁹ y R¹⁰ junto con N en NR⁹R¹⁰ pueden formar un anillo heterocíclico de 4-7 miembros opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R¹¹ y que contiene opcionalmente NR¹², O, S, =O o un doble enlace;

40

R¹¹ es R⁶, (CR₂)_k-OR⁷, CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁶, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

45

R¹² es H, R⁶, -(CR₂)₁₋₄CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁶, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)₁₋₄NRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

cada R es H o alquilo C₁₋₆;

50

cada k es 0-6;

j y m son independientemente 0-4;

a condición de que R^8 en $-X-NR-C(O)R^8$ no sea fenilo cuando Ar es fenilo y X es $(CR_2)_0$.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el anillo E es piridinilo.

5

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que Ar es fenilo.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R^1 es alcoxilo C_{1-6} o un haloalquilo que tiene 1-6 átomos de flúor.

10

5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que R^1 es OCH_3 , $OCHF_2$, OCF_3 , OCH_2CF_3 , OCF_2CH_3 u OCH_2CF_3 .

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que R^2 si está presente es halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , hidroxilo o CO_2R^7 y R^7 es H o alquilo C_{1-6} .

15

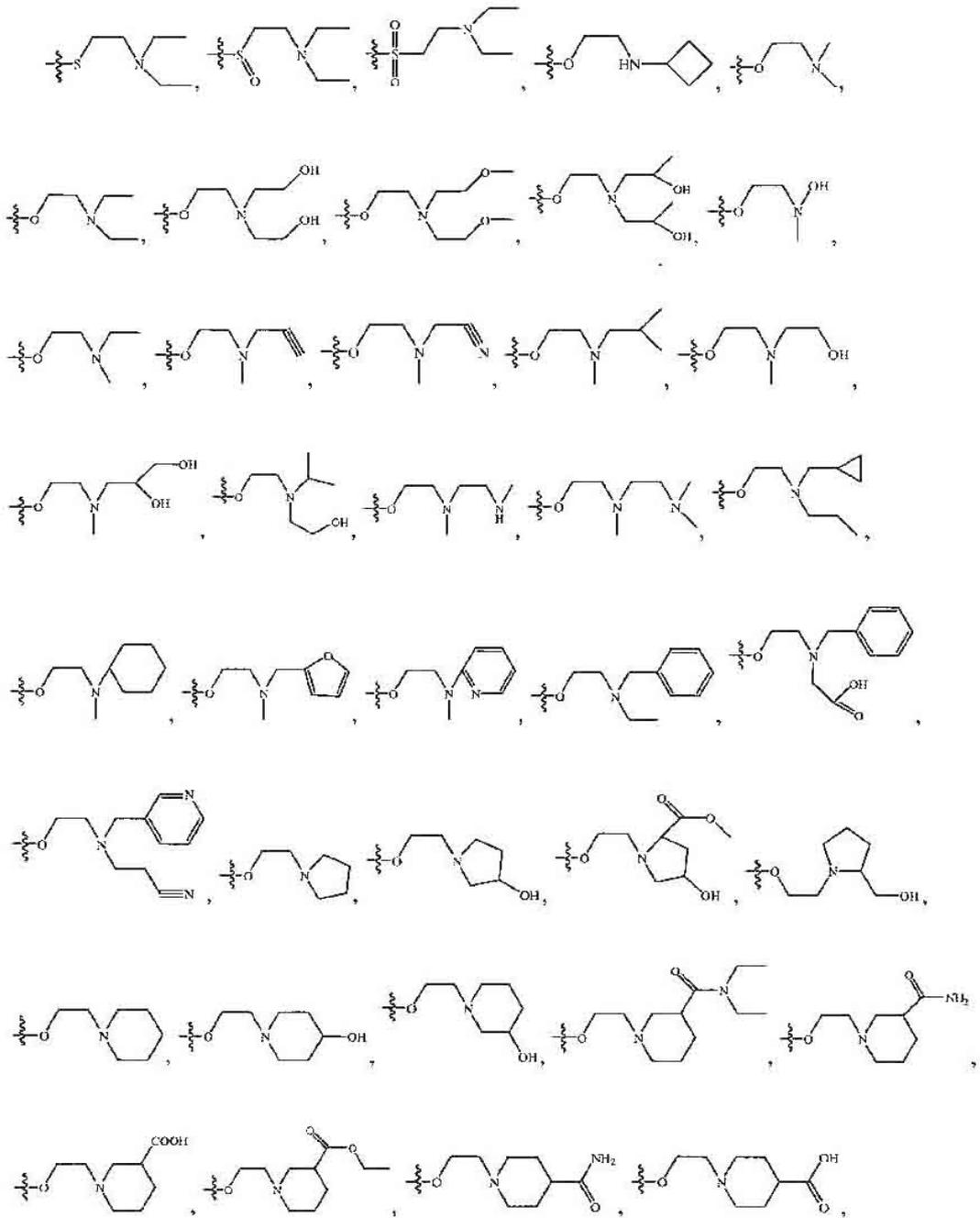
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que R^3 es $-L-NR^4R^5$, $-X-NR-C(O)R^8$ o $-X-NR-C(O)NR^4R^5$; L es $-X-C(O)$;

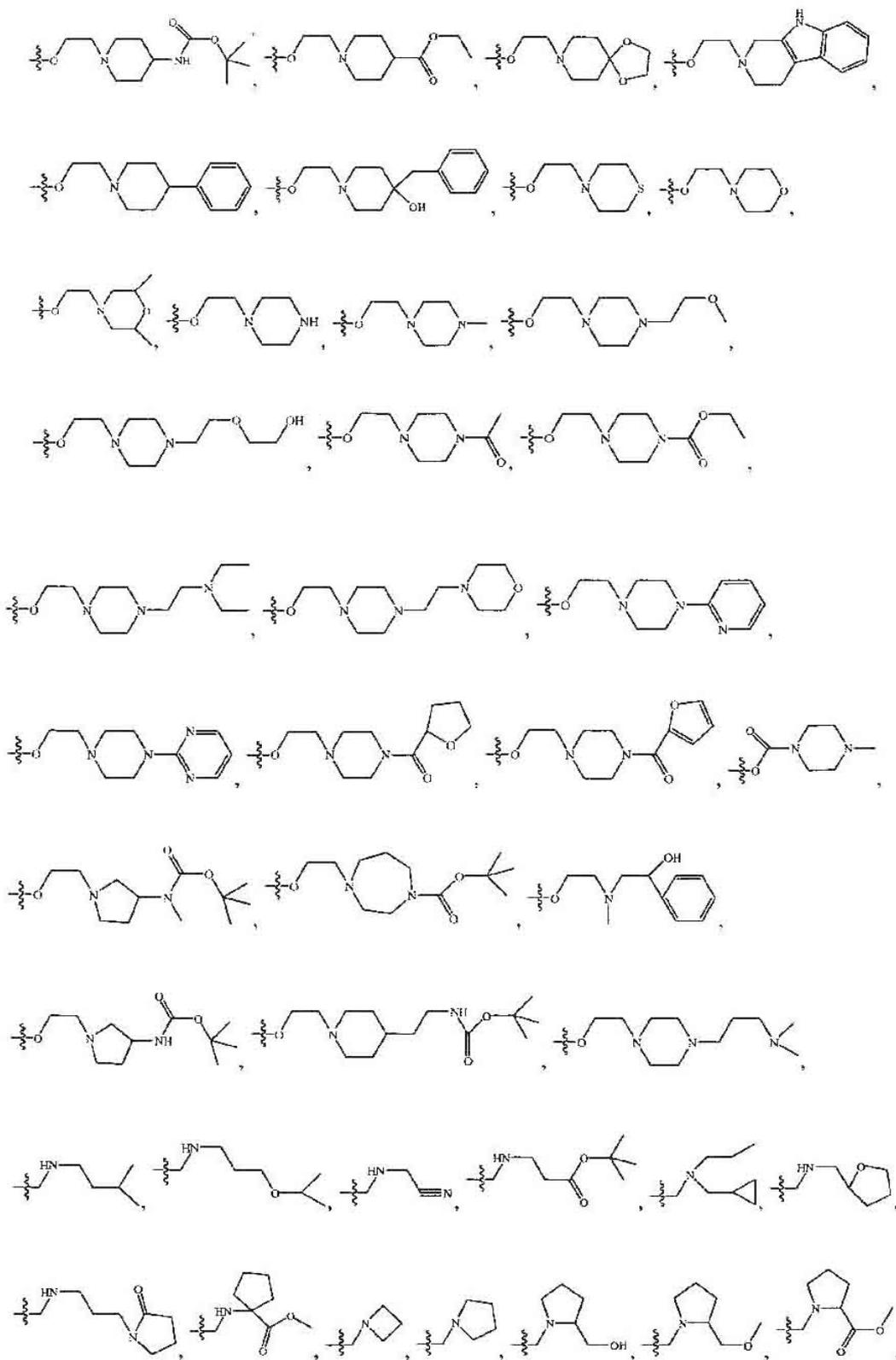
X es $(CR_2)_j$; y

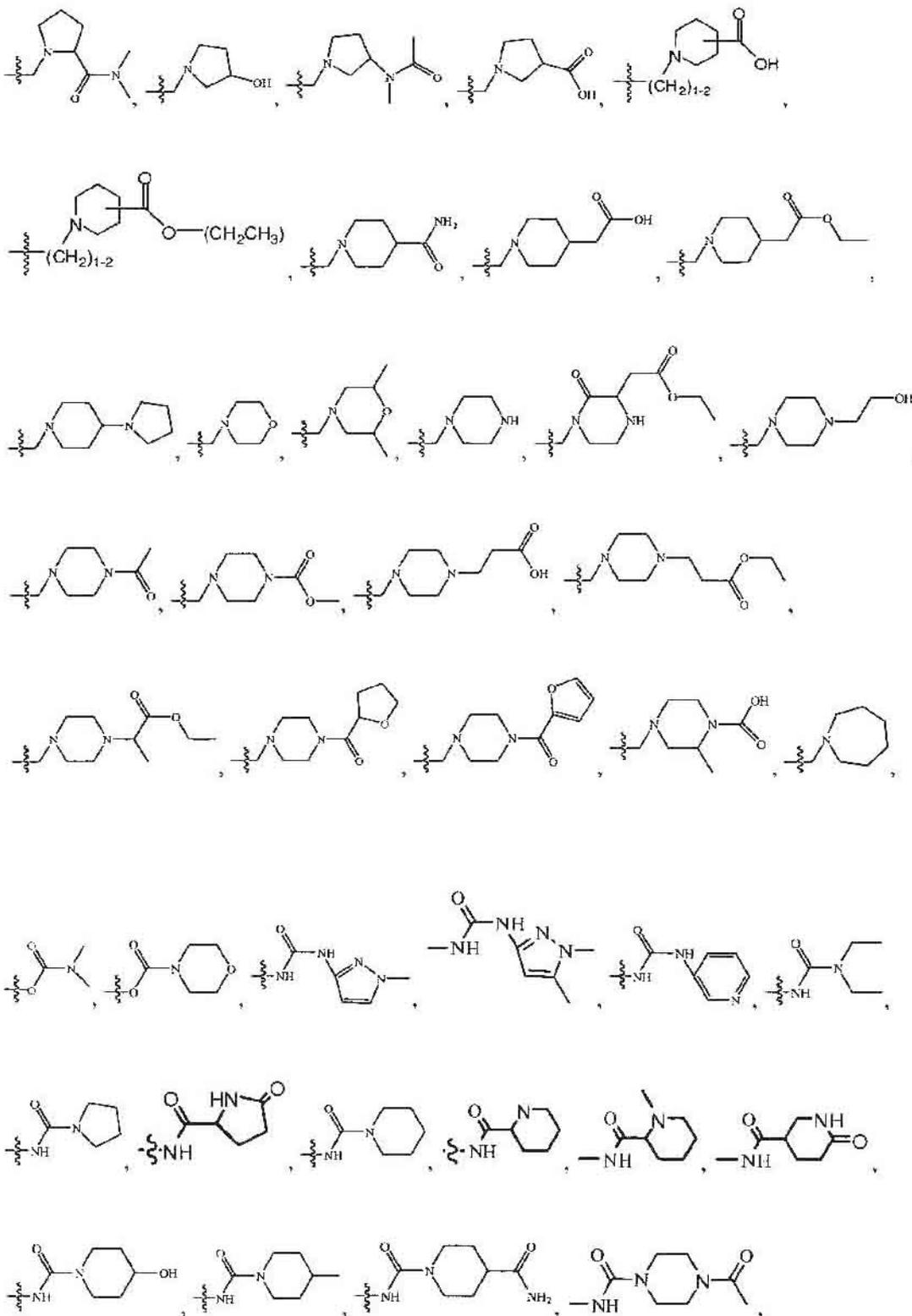
20

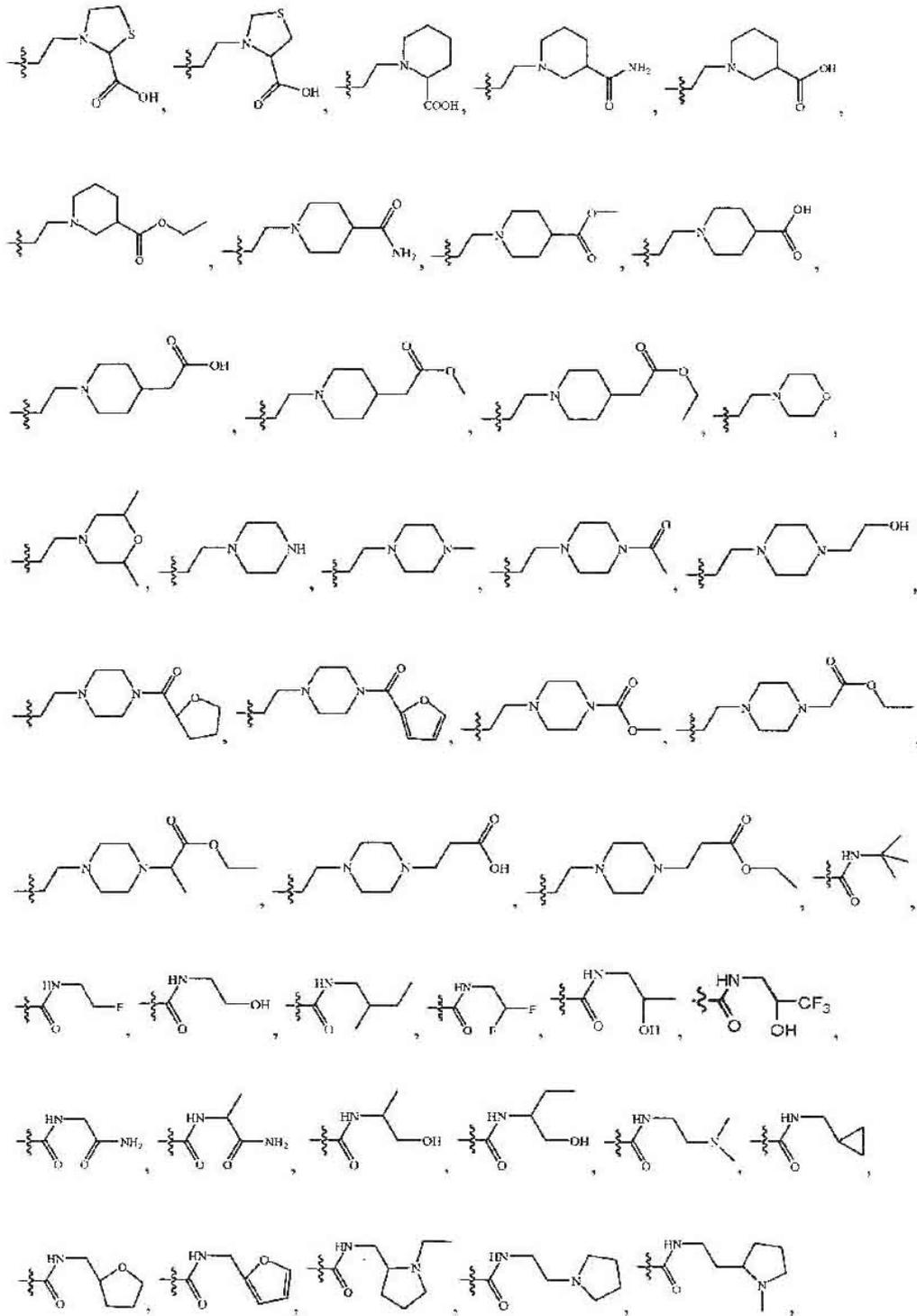
j es 0.

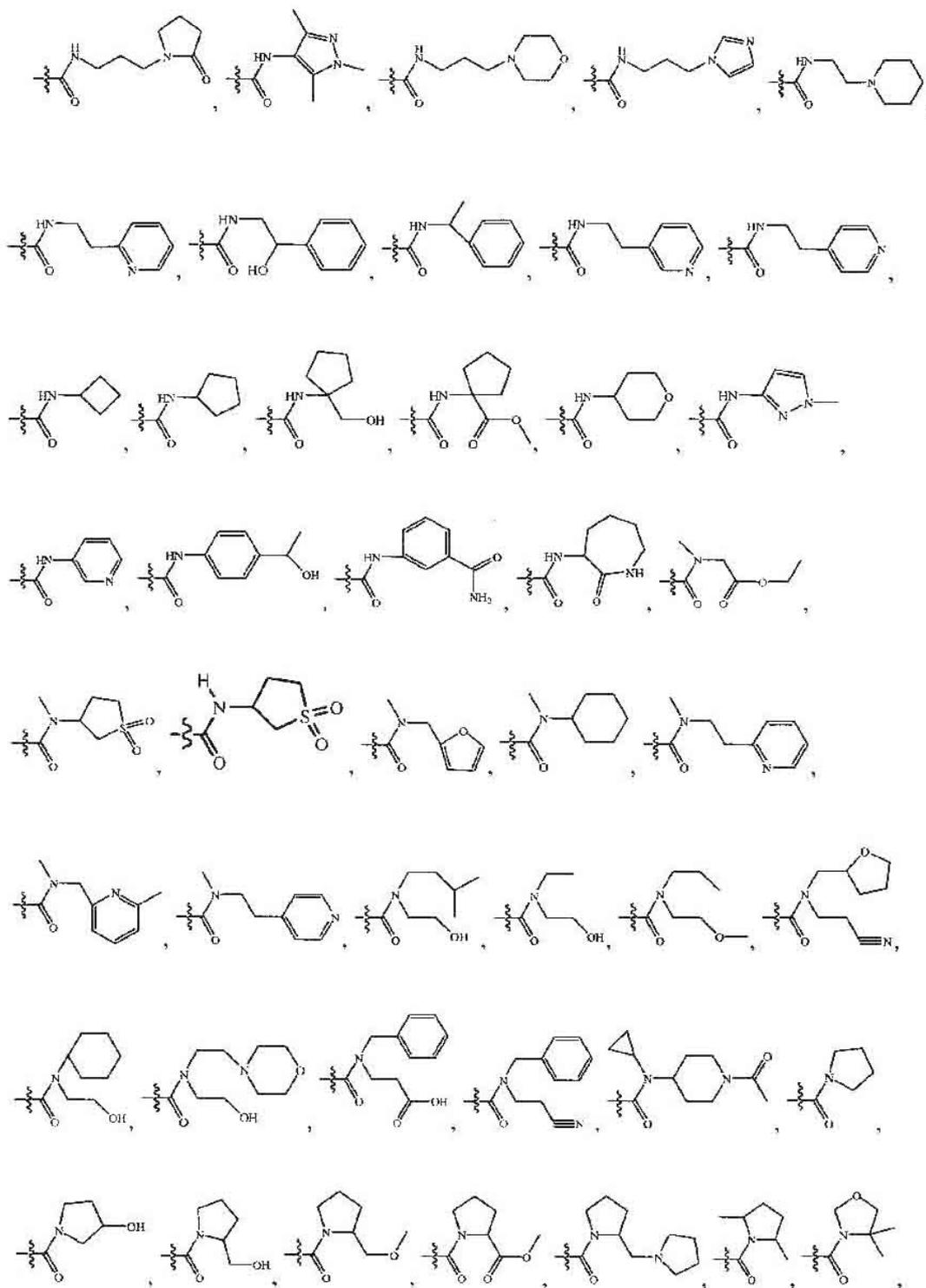
8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que R^3 se selecciona del grupo constituido por

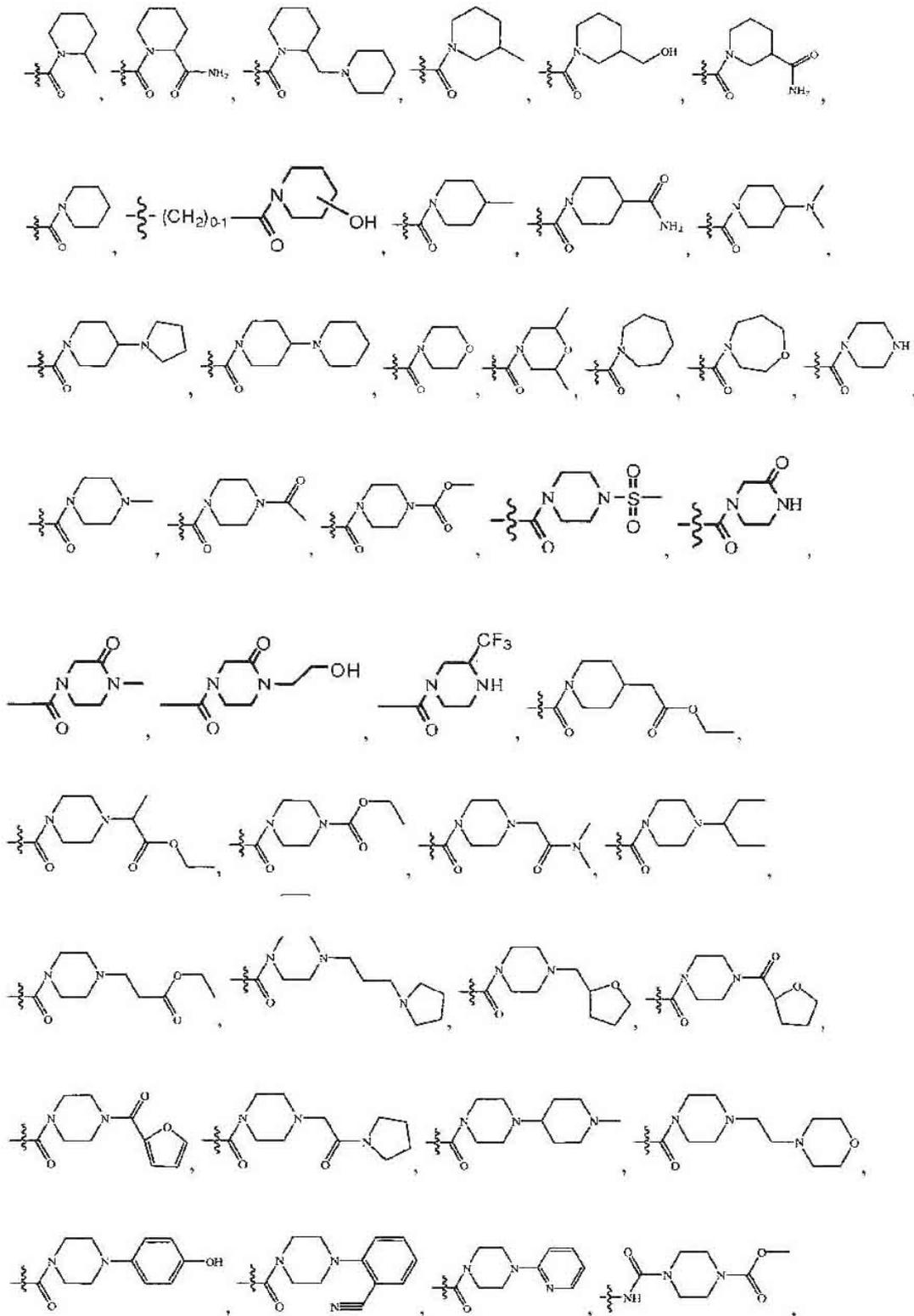


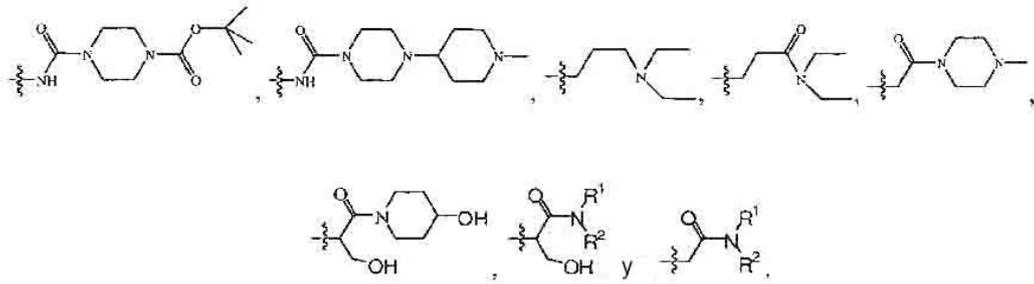




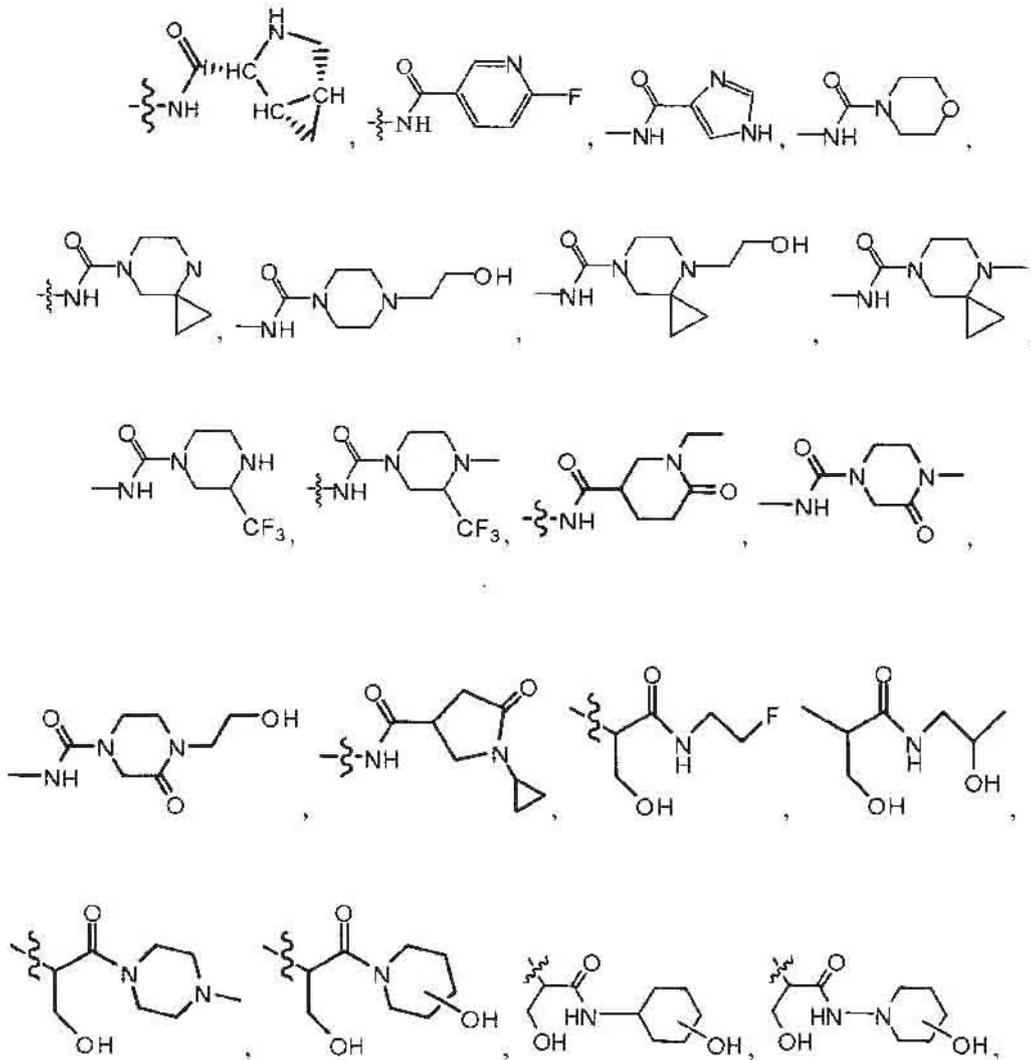


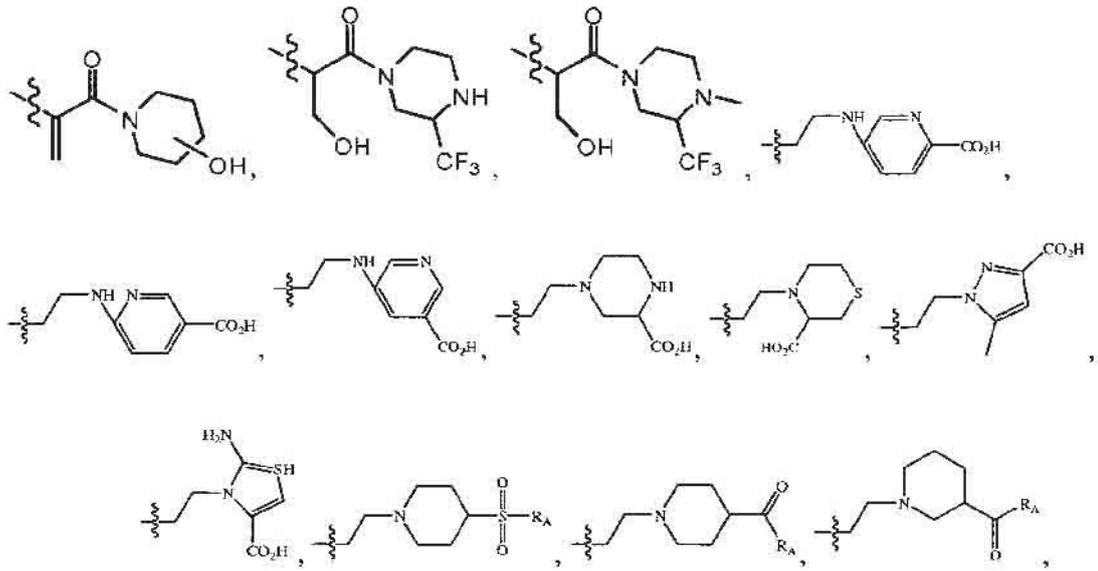




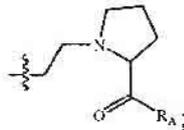


9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que R³ se selecciona del grupo constituido por



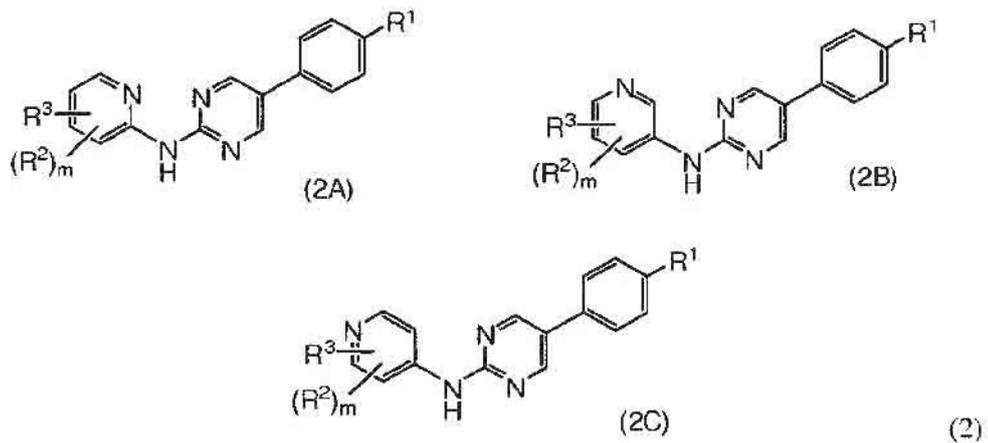


y



en los que R_A es $-NH_2$, $-NEt_2$ o $-NH(CH_2)_{1-6}OH$.

5 10. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona de las fórmulas (2A), (2B) y (2C):



10 en las que R^1 es alcoxilo C_{1-6} o un haloalquilo que tiene 1-6 átomos de flúor;

R^2 si está presente es alquilo C_{1-6} ;

R^3 es $-L-NR^4R^5$, $-X-NR-C(O)R^8$ o $-X-NR-C(O)NR^4R^5$;

15 L es $-X-C(O)$;

X es $(CR_2)_j$;

R⁴ y R⁵ son independientemente H; alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R₆; o R⁴ y R⁵ junto con N forman piperazinilo, pirrolidinilo o piperidinilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con =O o 1-2 grupos R¹¹;

5 R¹¹ es R⁸, (CR₂)_kOR⁷, CO₂R⁷, (CR₂)_k-C(O)-(CR₂)_k-R⁸, (CR₂)_kC(O)NR⁷R⁷, (CR₂)_kC(O)NR(CR₂)₀₋₆C(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kNRC(O)O₀₋₁R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂NR⁷R⁷, (CR₂)_kS(O)₁₋₂R⁸ o (CR₂)_kNRS(O)₁₋₂R⁸;

R⁷ y R⁸ son independientemente (CR₂)_k-R⁶ o alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halógeno, amino, amido, hidroxilo, alcoxilo, ciano, carboxilo o R⁶; o R⁷ es H;

R⁶ es un anillo heteroarilo de 5-6 miembros o heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituidos;

R es H o alquilo C₁₋₆;

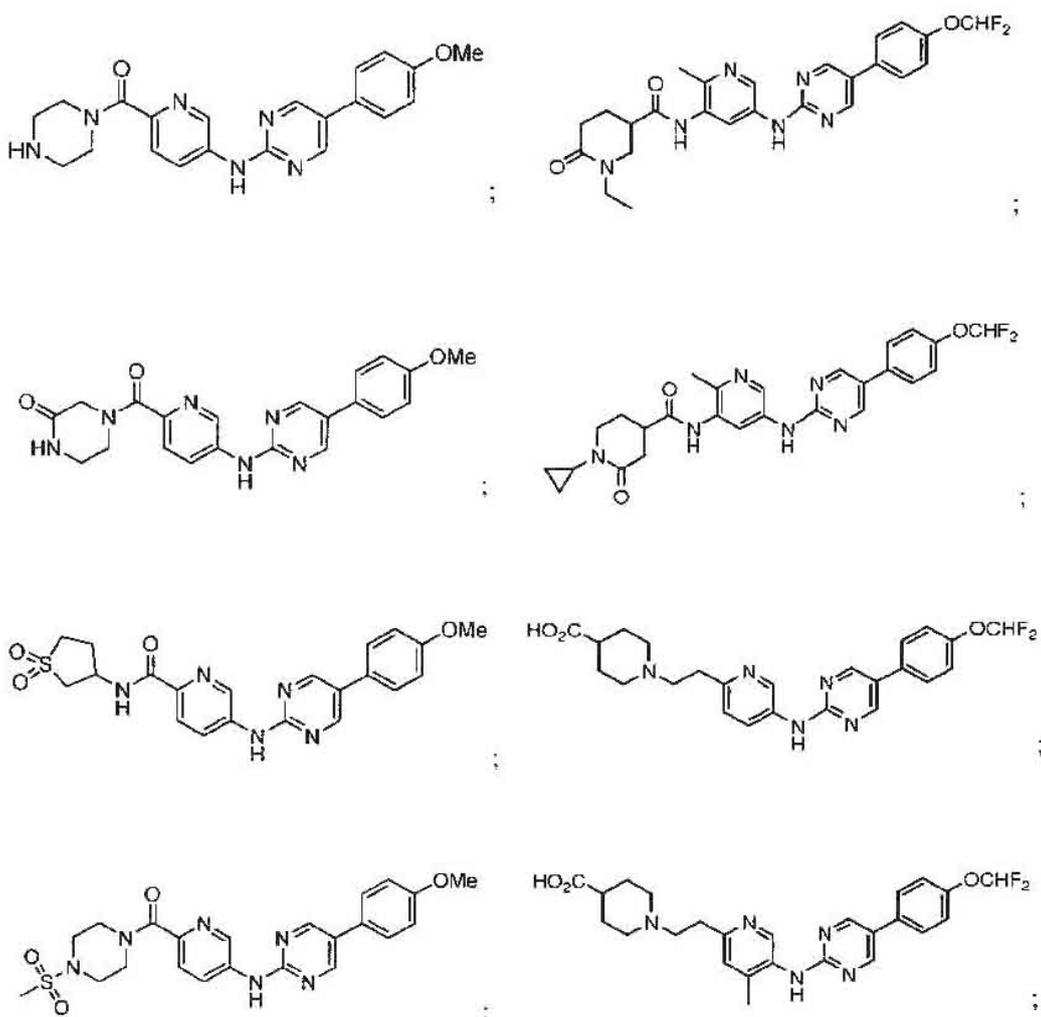
15

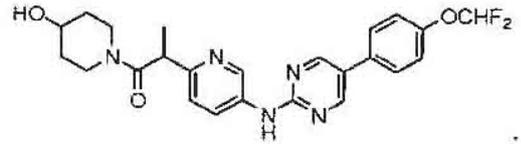
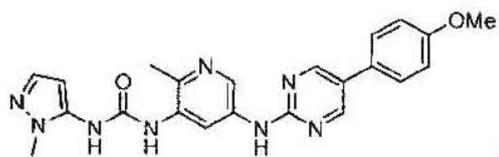
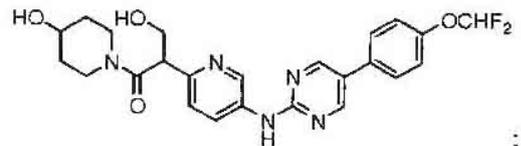
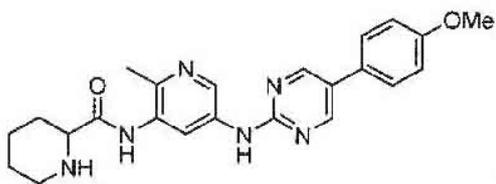
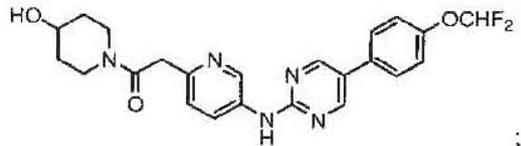
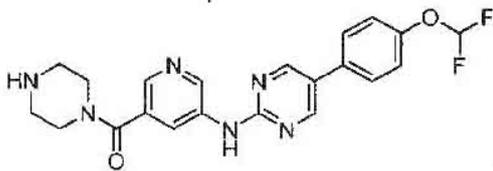
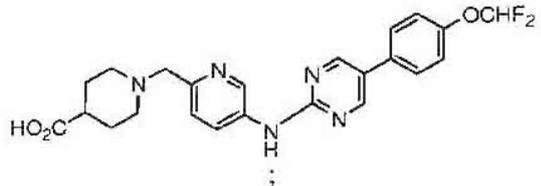
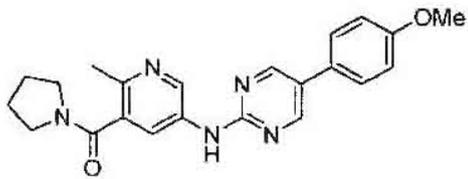
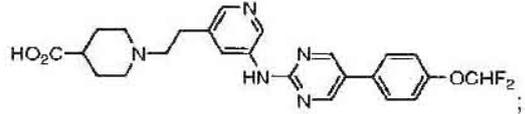
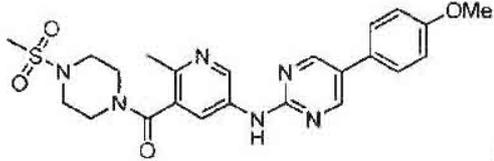
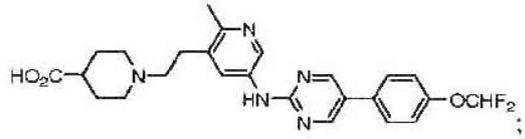
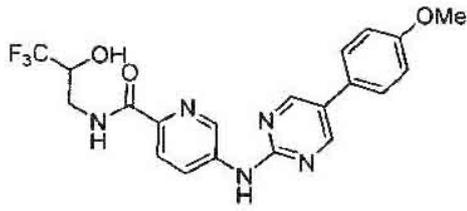
J es 0;

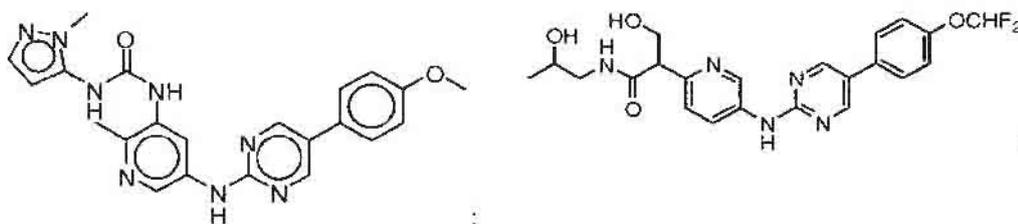
k es 0-4; y

20 m es 0-1.

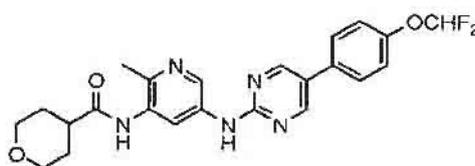
11. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo constituido por







y



12. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 5
13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o una composición farmacéutica del mismo, y opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, para uso en un procedimiento de tratamiento de una afección mediada por PDGFR α , PDGFR β y/o c-kit, en el que dicha afección es asma, dermatitis atópica, urticaria, síndrome del intestino irritable (SII) o una enfermedad fibrótica.
- 10
14. El compuesto para uso en un procedimiento de tratamiento de la reivindicación 13, en el que:
- (i) dicha enfermedad fibrótica es esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática (FPI), hipertensión pulmonar primaria (HPP), hipertensión arterial pulmonar primaria (HAPP), hipertensión arterial idiopática (HAI), fibrosis hepática, fibrosis renal o fibrosis cardíaca; y/o
- 15
- (ii) el segundo agente terapéutico es un agente antifibrótico, pirfenidona, tacrolimús, 5-cloro-2-((1E)-3-[2-(4-metoxibenzoil)-4-metil-1H-pirrol-1-il]prop-1-en-1-il)-N-(metilsulfonyl)benzamida, un agente antiinflamatorio, un corticosteroide, una cromolina, un antagonista de leucotrieno, un bloqueante de IgE, un broncodilatador, un agonista de β_2 , xantinas, un anticolinérgico o un agente quimioterapéutico; y/o
- 20
- (iii) dicho compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 se administra antes, simultáneamente o después del segundo agente terapéutico.
- 25
15. Un procedimiento *in vitro* para modular la actividad cinasa que comprende administrar a una célula o sistema de tejido una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en el que dicha cinasa es las cinasas c-kit, PDGFR α , PDGFR β , CSFIR, Abl, BCR-Abl, CSK, JNK1, JNK2, p38, p70S6K, TOF β , SRC, EGFR, trkB, FGFR3, Fes, Lck, Syk, RAF, MKK4, MKK6, SAPK2 β , BRK, Fms, ICDR, c-raf o b-raf; modulando así dicha actividad cinasa.
- 30
16. El procedimiento de la reivindicación 15, en el que dicha cinasa es c-kit, PDGFR α o PDGFR β y/o el compuesto se pone directamente en contacto con c-kit, PDGFR α o PDGFR β *in vitro*.