



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 344**

51 Int. Cl.:
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06752481 .9**
96 Fecha de presentación : **10.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1891066**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.02.2008**

54 Título: **Compuestos y composiciones como inhibidores de proteína quinasa.**

30 Prioridad: **13.05.2005 US 680684 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.05.2011

73 Titular/es: **IRM, L.L.C.**
Hurst Holme 12 Trott Road
Hamilton, HM 11, BM

72 Inventor/es: **Nagle, Advait;**
Gray, Nathanael, Schiander;
Liu, Yi;
Ren, Pingda;
Sim, Taebo y
You, Shuli

74 Agente: **Zea Checa, Bernabé**

ES 2 358 344 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

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la Invención

5 [0001] La invención proporciona una nueva clase de compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y procedimientos de uso de dichos compuestos para tratar o prevenir enfermedades o trastornos asociados con actividad quinasa anómala o desregulada, particularmente enfermedades o trastornos que implican una activación anómala de Abl, Bcr-Abl, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, Flt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y TrkB quinasas.

10 Antecedentes

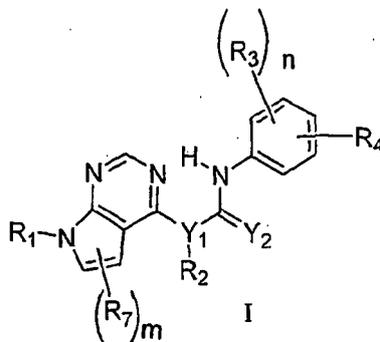
[0002] Las proteínas quinasa representan una gran familia de proteínas, que desempeñan un papel principal en la regulación de una amplia diversidad de procesos celulares y que mantienen el control de la función celular. Una lista parcial, no limitante, de estas quinasas incluyen: receptores tirosina quinasas tales como receptor quinasa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-R), el receptor del factor de crecimiento nervioso, trkB, Met y el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, FGFR3; tirosina quinasas no receptoras tales como Abl y la quinasa de fusión BCR-Abl, Lck, Csk, Fes, Bmx y c-src; y serina/treonina quinasas tales como c-RAF, sgk, MAP quinasas (por ejemplo, MKK4, MKK6, etc.) y SAPK2 α , SAPK2 β y SAPK3. Se ha observado actividad quinasa aberrante en muchas patologías incluyendo trastornos proliferativos benignos y malignos así como enfermedades resultantes de la activación inapropiada de los sistemas nervioso e inmune.

20 [0003] Los nuevos compuestos de la presente invención inhiben la actividad de una o más proteínas quinasa y, por lo tanto, se espera que sean útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas con quinasa.

El documento WO 2005/03946 describe compuestos de pirrolo-pirimidina para su uso como inhibidores de quinasa.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCION

[0004] En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:



25

[0005] en la que:

[0006] n se selecciona entre 0, 1 y 2;

[0007] m se selecciona entre 0, 1 y 2;

[0008] Y₁ se selecciona entre N y CR₅; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

30 [0009] Y₂ se selecciona entre O y S;

[0010] R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

[0011] R₂ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

[0012] R₃ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido y alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido;

35 [0013] R₄ se selecciona entre -NR₅C(O)R₆ y -C(O)NR₅R₆; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆; donde R₆ se selecciona entre aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquilo C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; en los que cualquier arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre halo, hidroxilo, -NR₅R₅, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo

C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆-heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ halo-sustituido, heterociclo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heterociclo C₃₋₈-alcoxi C₀₋₄; donde cualquier sustituyente heteroarilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆ e hidroxi-alquilo C₁₋₆;

5 **[0014]** R₇ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquilo C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; y los derivados de N-óxido, derivados de profármacos, derivados protegidos, isómeros individuales y mezclas de isómeros de los mismos; y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, hidratos) de dichos compuestos.

10 **[0015]** En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se expone en las reivindicaciones junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 **[0016]** En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto como se expone en las reivindicaciones para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad en un animal en el que la inhibición de la actividad quinasa puede prevenir, inhibir o mejorar la patología o sintomatología de la enfermedad, donde la quinasa se selecciona entre Abl, Bcr-Abl, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, Flt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y TrkB.

20 **[0017]** En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la actividad quinasa, particularmente la actividad Abl, Bcr-Abl, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, Flt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y/o TrkB, contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

25 **[0018]** "Alquilo" como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo y alcoxi halo-sustituidos, puede ser de cadena lineal o ramificada. Alcoxi C₁₋₄ incluye metoxi, etoxi y similares. Alquilo halo-sustituido incluye trifluorometilo, pentafluoroetilo y similares.

[0019] "Ariilo" se refiere a un conjunto de anillo aromático monocíclico o bicíclico condensado que contiene de seis a diez átomos de carbono en el anillo. Por ejemplo, ariilo puede ser fenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. "Ariileno" se refiere a un radical divalente obtenido a partir de un grupo ariilo.

30 **[0020]** "Heteroarilo" es como se ha definido anteriormente para ariilo en el que uno o más de los miembros del anillo son un heteroátomo. Por ejemplo, heteroarilo incluye piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalino, quinolinilo, benzofuranilo, benzopirano, benzotiopirano, benzo[1,3]dioxol, imidazolilo, benzoimidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

35 **[0021]** "Cicloalquilo" se refiere a un conjunto de anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclico condensado o policíclico puenteado que contiene el número indicado de átomos en el anillo. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₁₀ incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc.

40 **[0022]** "Heterocicloalquilo" se refiere a cicloalquilo, como se define en esta solicitud, con la condición de que uno o más de los carbonos en el anillo indicados se reemplace por un resto seleccionado entre -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-, en el que R es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o un grupo protector de nitrógeno. Por ejemplo, heterocicloalquilo C₃₋₈, como se usa en esta solicitud para describir compuestos de la invención incluye, morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]dec-8-ilo, etc.

[0023] "Halógeno" (o halo) representa preferiblemente cloro o flúor, pero también puede ser bromo o yodo.

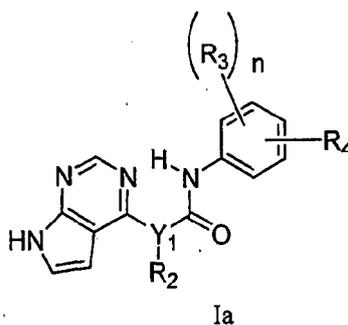
45 **[0024]** El "Panel de Quinasas" es una lista de quinasas que comprende Abl(humana), Ab1(T315I), JAK2, JAK3, ALK, JNK1 α 1, ALK4, KDR, Aurora-A, Lck, Btk, MAPK1, Bmx, MAPKAP-K2, BRK, MEK1, CaMKII(rata), Met, CDK1/ciclinaB, p70S6K, CHK2, PAK2, CK1, PDGFR α , CK2, PDK1, c-kit, Prim-2, c-RAF, PKA(h), CSK, PKB α , cSrc, PKC α , DYRK2, Plk3, EGFR, ROCK-I, Fes, Ron, FGFR3, Ros, Flt3, SAPK2 α , Fms, SGK, Fyn, SIK, GSK3 β Syk, IGF-1R, Tie-2, IKK β , TrkB, IR, WNK3, IRAK4, ZAP-70, ITK, AMPK(rata), LIMK1, Rsk2, Axl, LKB1, SAPK2 β BrSK2, Lyn (h), SAPK3, BTK, MAPKAP-K3, SAPK4, CaMKIV, MARK1, Snk, CDK2/ciclinaA, MINK, SRPK1, CDK3/ciclinaE, MKK4(m), TAK1, CDK5/p25, MKK6(h), TBK1, CDK6/ciclinaD3, MLCK, TrkA, CDK7/ciclinaH/MAT1, MRCK β TSSK1, CHK1, MSK1, Yes, CK1d, MST2, ZIPK, c-Kit (D816V), MuSK, DAPK2, NEK2, DDR2, NEK6, DMPK, PAK4, DRAK1, PAR-1Ba, EphA1, PDGFR β EphA2, Pim-1, EphA5, PKB β , EphB2, PKC β I, EphB4, PKC δ , FGFR1, PKC η , FGFR2, PKC θ , FGFR4, PKD2, Fgr, PKG1 β F1t1, PRK2, Hck, PYK2, HIPK2, Ret, IKK α , RIPK2, IRR, ROCK-II(humana), JNK2 α 2, Rse, JNK3, Rsk1(h), PI3 K γ , PI3 K δ y PI3-K β . Los compuestos de la invención se exploran frente al panel de quinasas (no mutantes y/o mutaciones de las mismas) e inhiben la actividad de al menos uno de los miembros de dicho panel.

- 5 **[0025]** "Formas mutantes de BCR-Ab1" significa cambios de aminoácidos sencillos o múltiples de la secuencia no mutada. Las mutaciones en BCR-ABL actúan interrumpiendo puntos de contacto críticos entre la proteína y el inhibidor (por ejemplo Gleevec y similares), con más frecuencia, induciendo una transición del estado inactivo al activo, es decir a una conformación a la que BCR-ABL y Gleevec son incapaces de unirse. A partir de análisis de muestras clínicas, el repertorio de mutaciones halladas en asociación con el fenotipo resistente ha estado aumentando lenta pero inexorablemente a lo largo del tiempo. Las mutaciones parecen acumularse en cuatro regiones principales. Un grupo de mutaciones (G250E, Q252R, Y253F/H, E255K/V) incluye aminoácidos que forman el bucle de unión a fosfato para ATP (también conocido como el bucle P). Un segundo grupo (V289A, F311L, T315I, F317L) puede encontrarse en el sitio de unión de Gleevec e interacciona directamente con el inhibidor mediante enlaces de hidrógeno o interacciones de Van der Waals. El tercer grupo de mutaciones (M351T, E355G) se agrupa en proximidad estrecha al dominio catalítico. El cuarto grupo de mutaciones (H396R/P) se localiza en el bucle de activación, cuya conformación es el interruptor molecular que controla la activación/inactivación de la quinasa. Las mutaciones puntuales de BCR-ABL asociadas con resistencia a Gleevec detectada en pacientes con CML y ALL incluyen: M224V, L248V, G250E, G250R, Q252R, Q252H, Y253H, Y253F, E255K, E255V, D276G, T277A, V289A, F311L, T315I, T315N, F317L, M343T, M315T, E355G, F359V, F359A, V379I, F382L, L387M, L387F, H396P, H396R, A397P, S417Y, E459K y F486S (las posiciones de aminoácidos, indicadas por el código de una letra, son las indicadas para la secuencia de GenBank, número de acceso AAB60394 y corresponden a ABL tipo 1a; Martinelli *et al.*, Haematologica/The Hematology Journal, abril de 2005; 90-4). A no ser que se indique de otra manera para la presente invención, Bcr-Abl se refiere a las formas no mutadas y mutantes de la enzima.
- 10
- 15
- 20 **[0026]** "Tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un procedimiento de aliviar o reducir una enfermedad y/o sus síntomas acompañantes.

Descripción de las Realizaciones Preferidas

- 25 **[0027]** La proteína de fusión BCR-Ab1 es el resultado de una translocación recíproca que condensa el proto-oncogen Abl con el gen Bcr. Después, BCR-Abl es capaz de transformar células B a través del aumento de la actividad mitogénica. Este aumento da como resultado una reducción de la sensibilidad a apoptosis, así como la alteración de la adhesión y la migración de células progenitoras CML. La presente invención proporciona compuestos, composiciones y procedimientos para el tratamiento de una enfermedad relacionada con quinasa, particularmente enfermedades relacionadas con quinasa Abl, Bcr-Ab1, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, FIt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y TrkB. Por ejemplo, la leucemia y otros trastornos proliferativos relacionados con BCR-Abl pueden tratarse a través de la inhibición formas no mutantes y mutantes de Bcr-Abl.
- 30

[0028] En una realización, con referencia a compuestos de Fórmula I, son compuestos de Fórmula Ia:



- [0029]** en la que:
- 35 **[0030]** n se selecciona entre 0 y 1;
- [0031]** Y₁ se selecciona entre N y CH;
- [0032]** Y₂ se selecciona entre O y S;
- [0033]** R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
- [0034]** R₂ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
- 40 **[0035]** R₃ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido y alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido;

[0036] R₄ se selecciona entre NR₅C(O)R₆ y -C(O)NR₅R₆; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆; y donde R₆ se selecciona entre aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; donde cualquier arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre halo, hidroxilo, -NR₅R₆, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆-heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ halo-sustituido, heterociclo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heterociclo C₃₋₈-alcoxi C₀₋₄; donde cualquier sustituyente heteroarilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆ e hidroxilo-alquilo C₁₋₆.

[0037] En otra realización, R₂ se selecciona entre hidrógeno y metilo; y R₃ se selecciona entre metilo y metoxi.

[0038] En otra realización, R₄ se selecciona entre NHC(O)R₆ y -C(O)NHR₆; donde R₆ se selecciona entre fenilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre trifluorometilo, dimetil-amino, imidazolilo, morfolino, morfolino-metilo, piperazinilo, piperazinil-metilo y pirrolidinil-metoxi; donde dicho imidazolilo, piperazinilo, piperazinil-metilo, está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre metilo, etilo y hidroxio-etilo.

[0039] Los compuestos preferidos de la invención se seleccionan entre: N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; 4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-N-(4-piperazin-1-ilmetil-3-trifluorometil-fenil)-benzamida; 3-(4-metil-imidazol-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-5-trifluorometil-benzamida; N-[4-metil-3-(2-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il-acetilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida; N-(3-imidazol-1-il-5-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida; 4-(2-metil-imidazol-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-morfolin-4-il-3-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-morfolin-4-ilmetil-3-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-morfolin-4-il-5-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-benzamida; 3-dimetilamino-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-5-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida; 3-(4-etil-piperazin-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-5-trifluorometil-benzamida; 4-metil-N-[3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; 3-[4-(2-hidroxio-etil)-piperazin-1-il]-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-5-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-piperazin-1-il-5-trifluorometil-benzamida; N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-(pirrolidin-2-ilmetoxi)-5-trifluorometil-benzamida; N-{3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-morfolin-4-il-5-trifluorometil-benzamida; N-{3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-N-{3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida; N-{3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-(4-metil-piperazin-1-il-metil)-3-trifluorometil-benzamida; y N-{3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-4-(2-metil-imidazol-1-il)-3-trifluorometil-benzamida.

[0040] Se detallan compuestos preferidos adicionales de la invención en los Ejemplos y la Tabla I, a continuación.

Farmacología y Utilidad

[0041] Los compuestos de la invención modulan la actividad de las quinasas y, como tal, son útiles para tratar enfermedades o trastornos en los que las quinasas contribuyen a la patología y/o sintomatología de la enfermedad. Los ejemplos de quinasas que se inhiben por los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria y contra las que los procedimientos descritos en la presente memoria son útiles incluyen, sin limitación, Abl y Bcr-Abl.

[0042] La tirosina quinasa de Abelson (es decir Abl, c-Abl) está implicada en la regulación del ciclo celular, en la respuesta celular a tensión genotóxica y en la transmisión de información acerca del ambiente celular a través de señalización de integrina. De forma general, parece que la proteína Abl cumple un papel complejo como módulo celular que integra señales de diversas fuentes extracelulares e intracelulares y que influye en las decisiones con respecto al ciclo celular y apoptosis. La tirosina quinasa de Abelson incluye subtipos derivados tales como la fusión quimérica (oncoproteína) BCR-Abl con actividad tirosina quinasa desregulada o la v-Abl. BCR-Abl es crítica en la patogénesis del 95% de las leucemias mielógenas crónicas (CML) y el 10% de la leucemia linfocítica aguda. STI-571 (Gleevec) es un inhibidor de la tirosina quinasa oncogénica BCR-Abl y se usa para el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (CML). Sin embargo, algunos pacientes en la etapa de crisis blástica de CML son resistentes a STI-571 debido a mutaciones en la BCR-Abl quinasa. Se han indicado más de 22 mutaciones hasta la fecha, siendo las más comunes G250E, E255V, T315I, F317L y M351T.

[0043] Los compuestos de la presente invención inhiben quinasa Abl especialmente quinasa v-abl. Los compuestos de la presente invención también inhiben quinasa BCR-Abl no mutante y mutaciones de quinasa BCR-Abl y son por lo

5 tanto adecuados para el tratamiento de enfermedades tumorales y cancerosas positivas para BCR-abl, tales como leucemias (especialmente leucemia mieloide crónica y leucemia linfoblástica aguda, en las que se encuentran especialmente mecanismos de acción apoptóticos) y también muestra efectos en el subgrupo de células madre leucémicas así como potencial para la purificación de estas células *in vitro* después de la retirada de dichas células (por ejemplo, retirada de médula ósea) y reimplantación de las células una vez que se han eliminado las células cancerosas (reimplantación de células de médula ósea purificada).

10 **[0044]** La ruta de señalización Ras-Raf-MEK-ERK media la respuesta celular a señales de crecimiento. Ras está mutada a una forma oncogénica en ~15% de cáncer humano. La familia Raf pertenece a la proteína serina/treonina quinasa e incluye tres miembros, A-Raf, B-Raf y c-Raf (o Raf-1). El interés de Raf como diana farmacológica se ha centrado en la relación de Raf como un efector corriente abajo de Ras. Sin embargo, datos recientes sugieren que B-Raf puede tener un papel prominente en la formación de ciertos tumores sin necesidad de un alelo Ras activado (Nature 417, 949 - 954 (01 de julio de 2002). En particular, se han detectado mutaciones de B-Raf en un alto porcentaje de melanomas malignos.

15 **[0045]** Los tratamientos médicos existentes para melanoma, están limitados en su eficacia, especialmente para melanomas de etapa tardía. Los compuestos de la presente invención también inhiben procesos celulares que implican quinasa b-Raf, lo que proporciona una nueva oportunidad terapéutica para el tratamiento de cánceres humanos, especialmente para melanoma.

20 **[0046]** Los compuestos de la presente invención también inhiben los procesos celulares que implican la quinasa c-Raf. c-Raf se activa por el oncogen Ras, que está mutado en una amplia variedad de cánceres humanos. Por lo tanto la inhibición de la actividad quinasa de c-Raf puede proporcionar un medio para prevenir el crecimiento tumoral mediado por Ras [Campbell, S. L., Oncogene, 17, 1395 (1998)].

25 **[0047]** PDGF (Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas) es un factor de crecimiento que aparece de forma muy habitual, que desempeña un papel importante en crecimiento normal y también en proliferación celular patológica, tal como se ve en carcinogénesis y en enfermedades de las células de músculo liso de los vasos sanguíneos, por ejemplo en aterosclerosis y trombosis. Los compuestos de la invención pueden inhibir la actividad del receptor de PDGF (PDGFR) y son, por lo tanto, adecuados para el tratamiento de enfermedades tumorales, tal como gliomas, sarcomas, tumores de próstata y tumores del colon, mama y ovario.

30 **[0048]** Los compuestos de la presente invención, pueden usarse no solamente como una sustancia inhibidora de tumores, por ejemplo en cáncer pulmonar de células pequeñas, sino también como un agente para tratar trastornos proliferativos no malignos, tal como aterosclerosis, trombosis, soriasis, esclerodermia y fibrosis, así como para la protección de células madre, por ejemplo para combatir el efecto hemotóxico de agentes quimioterapéuticos, tales como 5-fluoruracilo, y en asma. Los compuestos de la invención pueden usarse especialmente para el tratamiento de enfermedades, que responden a una inhibición del receptor quinasa de PDGF.

35 **[0049]** Los compuestos de la presente invención muestran efectos útiles en el tratamiento de trastornos que surgen como resultado de trasplante, por ejemplo, trasplante alógeno, especialmente rechazo de tejido, tal como especialmente bronquiolitis obliterante (OB), es decir un rechazo crónico de trasplantes de pulmón alógenos. A diferencia de los pacientes sin OB, los que tienen OB muestran con frecuencia una concentración de PDGF elevada en fluidos de lavado bronquioalveolar.

40 **[0050]** Los compuestos de la presente invención también son eficaces en enfermedades asociadas con migración y proliferación de células de músculo liso vascular (en las que PDGF y PDGF-R también desempeñan un papel con frecuencia), tales como reestenosis y aterosclerosis. Estos efectos y las consecuencias de los mismos para la proliferación o migración de células de músculo liso vasculares *in vitro* e *in vivo* puede demostrarse mediante la administración de los compuestos de la presente invención y también mediante la investigación de su efecto en el engrosamiento de la íntima vascular después de una lesión mecánica *in vivo*.

45 **[0051]** La familia trk de receptores de neurotrofina (trkA, trkB, trkC) promueve la supervivencia, crecimiento y diferenciación de los tejidos neuronales y no neuronales. La proteína TrkB se expresa en células de tipo neuroendocrino en el intestino delgado y el colon, en las células alfa del páncreas, en los monocitos y macrófagos de los ganglios 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 con una progresión desfavorable de tumores de Wilms y de neuroblastomas. TrkB, además, se expresa en células de próstata cancerosas pero no en células normales. La ruta de señalización corriente abajo de 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 *et al.*, 2001).

50 **[0052]** La quinasa, 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 característica de las células malignas pero está ausente en las células normales. Por otro lado, los ratones deficientes en la expresión de c-src muestran un fenotipo osteopetrótico, lo que indica una participación clave de c-src en función de osteoclastos y una posible implicación en trastornos relacionados.

[0053] La quinasa de la familia Tec, Bmx, una proteína tirosina quinasa no receptora, controla la proliferación de células cancerosas epiteliales mamarias.

[0054] Se mostró que el receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 3 ejerce un efecto regulador negativo en 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 y una mutación, TDII FGFR3, tiene una actividad tirosina quinasa constitutiva que activa el factor de transcripción Stat1, lo que conduce a la expresión de un inhibidor del ciclo celular, detención del crecimiento y desarrollo óseo anómalo (Su *et al.*, Nature, 1997, 386, 288-292). FGFR3 también se expresa con frecuencia en múltiples cánceres de tipo mieloma. Los inhibidores de la actividad de FGFR3 son útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediadas por linfocitos T incluyendo sin limitación artritis reumatoide (RA), artritis de colágeno II, esclerosis múltiple (MS), lupus sistémico eritematoso (SLE), soriasis, diabetes de aparición juvenil, enfermedad de Sjogren, enfermedad del tiroides, sarcoidosis, uveítis autoinmune, enfermedad inflamatoria del intestino (Crohn y colitis ulcerosa), enfermedad celiaca y miastenia grave.

[0055] La actividad de quinasa regulada por glucocorticoides y suero (SGK) se correlaciona con actividades de canal de iones alteradas, en particular, las de los canales de sodio y/o potasio y los compuestos de la invención pueden ser útiles para el tratamiento de la hipertensión.

[0056] Lin *et al* (1997) J. Clin. Invest. 100, 8: 2072-2078 y P. Lin (1998) PNAS 95, 8829-8834, han mostrado una inhibición del crecimiento de tumores y la vascularización y también una disminución en las metástasis de pulmón durante infecciones adenovirales o durante inyecciones del domino extracelular de Tie-2 (Tek) en tumor de mama y modelos de xenoinjerto de melanoma. Los inhibidores de Tie2 pueden usarse en situaciones en las que la neovascularización tiene lugar de forma inapropiada (es decir en retinopatía diabética, inflamación crónica, soriasis, sarcoma de Kaposi, neovascularización crónica debido a degeneración macular, artritis reumatoide, hemangioma infantil y cánceres).

[0057] Lck desempeña un papel en la señalización de linfocitos T. Los ratones que carecen del gen Lck tienen una escasa capacidad de desarrollar timocitos. La función de Lck como un activador positivo de señalización de linfocitos T sugiere que los inhibidores de Lck pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide.

[0058] Se ha implicado que las JNK, junto con otras MAPK, tienen un papel en la mediación de respuesta celular al cáncer, la agregación de plaquetas inducida por trombina, trastornos inmunodeficientes, enfermedades autoinmunes, muerte celular, alergias, osteoporosis y enfermedades coronarias. Las dianas terapéuticas relacionadas con la activación de la ruta de JNK incluyen leucemia mielógena crónica (CML), artritis reumatoide, asma, osteoartritis, isquemia, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Como resultado de la importancia de la activación de JNK asociada con enfermedades hepáticas o episodios de isquemia hepática, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para tratar diversos trastornos hepáticos. Un papel para JNK en enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio o insuficiencia cardiaca congestiva también se han indicado puesto que se ha mostrado que JNK media en las respuestas hipertróficas a diversas formas de tensión cardiaca. Se ha demostrado que la cascada de JNK también desempeña un papel en la activación de linfocitos T, incluyendo la activación del promotor de IL-2. De este modo, los inhibidores de JNK pueden tener valor terapéutico en la alteración de las respuestas inmunes patológicas. También se ha establecido un papel para la activación de JNK en diversos cánceres, lo que sugiere el uso potencial de inhibidores de JNK en cáncer. Por ejemplo, JNK activada de forma constitutiva está asociada con tumorigénesis mediada por HTLV-1 [Oncogene 13: 135-42 (1996)]. JNK puede desempeñar un papel en el sarcoma de Kaposi (KS). Otros efectos proliferativos de otras citocinas implicadas en la proliferación de KS, tales como factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), IL-6 y TNF α , también pueden mediar por JNK. Además, la regulación del gen c-jun en células transformadas con p210 BCR-ABL se corresponde con la actividad de JNK, lo que sugiere un papel para los inhibidores de JNK en el tratamiento de leucemia mielógena crónica (CML) [Blood 92: 2450-60 (1998)].

[0059] Se cree que ciertas afecciones proliferativas anómalas están asociadas con la expresión de raf y, por lo tanto, se cree que son sensibles a la inhibición de expresión de raf. También se han implicado niveles anormalmente altos de la expresión de la proteína raf en la transformación y proliferación celular anómala. También se cree que estas afecciones de proliferación anómala son sensibles a la inhibición de la expresión de raf. Por ejemplo, se cree que la expresión de la proteína c-raf desempeña un papel en la proliferación celular anómala puesto que se ha indicado que el 60% de todas las líneas celulares de carcinoma de pulmón expresan niveles inusualmente altos de ARNm y proteína c-raf. Son ejemplos adicionales de afecciones proliferativas anómalas trastornos hiperproliferativos tales como cánceres, tumores, hiperplasia, fibrosis pulmonar, angiogénesis, soriasis, aterosclerosis y proliferación celular de músculo liso en los vasos sanguíneos, tales como estenosis o reestenosis después de angioplastia. La ruta de señalización celular de la que raf forma parte también se ha implicado en trastornos inflamatorios caracterizados por proliferación de linfocitos T (activación y crecimiento de linfocitos T), tales como rechazo de injerto tisular, choque de endotoxinas y nefritis glomerular, por ejemplo.

[0060] Las proteínas quinasa activadas por estrés (SAPK) son una familia de proteínas quinasa que representan la penúltima etapa en las rutas de transducción de señales 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 implicado en la transcripción de genes que codifican proteínas implicadas en la reparación de ADN que está dañado debido a lesiones genotóxicas. Por lo tanto, los

agentes que inhiben la actividad de SAPK en una célula evitan la reparación de ADN y sensibilizan la célula ante agentes que inducen daño de ADN o inhiben la síntesis de ADN e inducen apoptosis de una célula o que inhiben la proliferación celular.

5 **[0061]** Las proteínas quinasa 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 una diversidad de señales extracelulares. Las MAPK se activan por fosforilación en un motivo de fosforilación dual que tiene la secuencia Thr-X-Tyr por proteínas quinasa quinasa activadas por mitógeno (MKK). En eucariotas superiores, el papel fisiológico de la señalización de MAPK se ha correlacionado con acontecimientos celulares tales como proliferación, oncogénesis, desarrollo y diferenciación. En consecuencia, la capacidad de regular la trasducción de señal
10 mediante estas rutas (particularmente mediante MKK4 y MKK6) podría conducir al desarrollo de tratamientos y terapias preventivas para enfermedades humanas asociadas con señalización de MAPK, tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y cáncer.

15 **[0062]** La familia de proteínas quinasa ribosomales S6 humanas consiste en al menos 8 miembros (RSK1, RSK2, RSK3, RSK4, MSK1, MSK2, p70S6K y p70S6 Kb). Las proteínas quinasa S6 de proteína ribosomal cumplen funciones pleotrópicas importantes, entre las que está un papel principal en la regulación de la traducción de ARNm durante la biosíntesis proteica (Eur. J. Biochem noviembre del 2000; 267(21): 6321-30, Exp Cell Res. 25 de nov. 1999; 253 (1): 100-9, Mol Cell Endocrinol. 25 de mayo, 1999; 151(1-2):65-77). La fosforilación de la proteína ribosomal S6 por p70S6 también se ha implicado en la regulación de la motilidad celular (Immunol. Cell Biol. Agosto del 2000; 78(4):447-51) y crecimiento celular (Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 2000;65: 101-27) y, por lo tanto, pueden ser importantes en la metástasis tumoral, la respuesta inmune y reparación de tejidos así como en otras enfermedades.
20

25 **[0063]** Las SAPK (también denominadas "quinasas N terminales jun" o "JNK") son una familia de proteínas quinasa que representan la penúltima etapa en 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 implicado en la transcripción de genes que codifican proteínas implicadas en la reparación de ADN que está dañado debido a lesiones genotóxicas. Los agentes que inhiben la actividad de SAPK en una célula evitan la reparación de ADN y sensibilizan a la célula ante las modalidades terapéuticas de cáncer que actúan mediante la inducción de daño de ADN.

30 **[0064]** BTK desempeña un papel en enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias tales como lupus sistémico eritematoso (SLE), artritis reumatoide, vasculitis múltiples, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), miastenia grave y asma. Debido al papel de BTK en la activación de linfocitos B, los inhibidores de BTK son útiles como inhibidores de la actividad patogénica mediada por linfocitos B, tales como producción de autoanticuerpos y son útiles para el tratamiento de linfoma y leucemia de linfocitos B.

35 **[0065]** CHK2 es un miembro de la familia de quinasas de punto de control de proteínas serina/reonina quinasas y está implicada en un mecanismo usado para el control de daño a ADN, tal como daño causado por mutágenos ambientales y especies reactivas de oxígeno endógenas. Como resultado, se implica como un supresor de tumores y diana para terapia de cáncer.

[0066] CSK influye en el potencial metastático de células cancerosas, particularmente cáncer de colon.

[0067] Fes es una proteína tirosina quinasa no receptora que se ha implicado en una diversidad de rutas de transducción de señales de citocinas, así como diferenciación de células mieloides. Fes también es un componente clave de la maquinaria de diferenciación de granulocitos.

40 **[0068]** La actividad del receptor tirosina quinasa Flt3 está implicada en leucemias y síndrome mielodisplásico. En aproximadamente el 25% de AML las células de leucemia expresan una forma constitutivamente activa de tirosina quinasa FLT3 autofosforilada (p) en la superficie celular. La actividad de p-FLT3 confiere ventajas de crecimiento y supervivencia a las células leucémicas. Los pacientes con leucemia aguda, cuyas células leucémicas expresan actividad quinasa p-FLT3, tienen unos resultados clínicos globales bajos. La inhibición de la actividad quinasa de p-FLT3 induce apoptosis (muerte celular programada) de las células leucémicas.
45

50 **[0069]** Los inhibidores de IKK α e IKK β (1 y 2) son agentes terapéuticos para enfermedades que incluyen artritis reumatoide, rechazo de transplantes, enfermedad inflamatoria del intestino, osteoartritis, asma, enfermedad obstructiva pulmonar crónica, aterosclerosis, soriasis, esclerosos múltiple, apoplejía, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Alzheimer, isquemia cerebral, lesión cerebral traumática, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, hemorragia subaracnoide u otras enfermedades o trastornos asociados con producción excesiva de mediadores inflamatorios en el cerebro y sistema nervioso central.

55 **[0070]** Met está asociada con la mayoría de los tipos de cánceres humanos principales y la expresión se correlaciona con frecuencia con un pronóstico negativo y metástasis. Los inhibidores de Met son agentes terapéuticos para enfermedades que incluyen cánceres tales como cáncer de pulmón, NSCLC (cáncer pulmonar de células no pequeñas), cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos (por ejemplo, sarcomas uterinos, carcinoma de las trompas de falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cuello del útero, carcinoma de la vagina o carcinoma de la vulva), Enfermedad de Hodgkin,

5 cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, (por ejemplo, cáncer de las glándulas tiroidea, paratiroidea o suprarrenal), sarcomas de tejidos blandos, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, tumores sólidos de la infancia, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer del riñón o uréter (por ejemplo, carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal), malignidad pediátrica, neoplasmas del sistema nervioso central (por ejemplo linfoma primario del SNC, tumores de la médula espinal, glioma del tronco encefálico o adenomas de la hipófisis), cánceres de la sangre tales como leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, etc, enfermedad cutánea neoplásica del esófago de Barrett (síndrome pre-maligno), soriasis, micosis fungoide e hipertrofia prostática benigna, enfermedades relacionadas con la diabetes tales como retinopatía diabética, isquemia retinal y neovascularización retinal, cirrosis hepática, enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis, enfermedades inmunológicas tales como enfermedades autoinmunes y enfermedades renales. Preferiblemente, la enfermedad es cáncer tal como leucemia mieloide aguda y cáncer colorrectal.

15 **[0071]** La quinasa relacionada con Nima 2 (Nek2) es una proteína quinasa regulada por ciclo celular con actividad máxima en el comienzo de la mitosis que se localiza en el centrosoma. Los estudios funcionales han implicado a Nek2 en la regulación de la separación del centrosoma y formación del huso. La proteína Nek2 se eleva de 2 a 5 veces en líneas celulares derivadas de una serie de tumores humanos que incluyen los cervicales, de ovario, de próstata y particularmente de mama.

[0072] Las enfermedades o afecciones mediadas por p70S6K incluyen, sin limitación, trastornos proliferativos, tales como cáncer y esclerosis tuberosa.

20 **[0073]** Existen crecientes pruebas de que la terapia inhibitoria de quinasa funciona de forma consistente y fiable contra cánceres en los que la diana farmacológica de la quinasa se activa de forma constitutiva por mutaciones génicas. Existen múltiples informes de mutaciones halladas en quinasas resultantes de un proceso de selección de tumores natural. Una lista no limitante de ejemplos de estos incluirían: mutante de b-raf V599E en más del 60% de los casos de melanoma; mutantes Flt3-ITD en el 30% de los casos de AML; mutaciones de c-kit en pacientes con GIST; PDGFR α en GIST y HES; PDGFR β en CMML; mutantes Pi3K en cánceres de colon y gástricos y glioblastomas; y mutantes de EGFR en el 10% de cánceres de pulmón (sensibles a Iressa®) y en glioblastomas.

25 **[0074]** De acuerdo con lo anterior, también se describe un procedimiento para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos anteriormente en un sujeto que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho procedimiento administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz (Véase, "Administración y Composiciones Farmacéuticas", posteriormente) de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Para cualquiera de los usos anteriores, la dosificación requerida variará dependiendo del modo de administración, la afección particular a tratar y el efecto deseado.

Administración y Composiciones Farmacéuticas

35 **[0075]** En general, los compuestos de la invención se administrarán en cantidades terapéuticamente eficaces mediante cualquiera de los modos habituales y aceptables conocidos en la técnica, solos 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 la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto usado y otros factores. En general, se ha indicado que se obtienen resultados satisfactorios sistémicamente a dosificaciones diarias de aproximadamente 0,03 a 2,5 mg/kg de peso corporal. Una dosificación diaria aconsejable en los mamíferos mayores, por ejemplo 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 de forma retardada. Las formas de dosificación unitarias adecuadas para administración oral comprenden de aproximadamente 1 a 50 mg de principio activo.

45 **[0076]** Los compuestos de la invención pueden administrarse como composiciones farmacéuticas por cualquier vía convencional, en particular vía enteral, por ejemplo, en la forma 17 de comprimidos o cápsulas o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, por ejemplo, en forma de lociones, geles, pomadas o cremas o en una forma nasal o de supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable junto con al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable pueden fabricarse de una manera convencional mediante procedimientos de mezcla, granulación o recubrimiento. Por ejemplo, las composiciones orales puede ser comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina; b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, sus sales de magnesio o de calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de aluminio de magnesio, pasta de almidón, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea d) disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o e) absorbentes, colorantes, saporíferos y edulcorantes. Las composiciones inyectables pueden ser soluciones o suspensiones isotónicas acuosas y pueden prepararse supositorios a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Las composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de disolución, sales para la regulación de la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Las formulaciones adecuadas para aplicaciones transdérmicas incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención con

5 un vehículo. Un vehículo puede incluir disolventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del hospedador. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en forma de un vendaje que comprende un miembro de apoyo, un depósito que comprende el compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera que controla la tasa para suministrar el compuesto a la piel del hospedador a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo de tiempo prolongado y medios para asegurar el dispositivo a la piel. También pueden usarse formulaciones transdérmicas de matriz. Las formulaciones adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, la piel y ojos, son preferentemente soluciones acuosas, pomadas, cremas o geles bien conocidos en la técnica. Estas pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.

10 **[0077]** Los compuestos de la invención pueden administrarse en cantidades terapéuticamente eficaces en combinación con uno o más agentes terapéuticos (combinaciones farmacéuticas). Por ejemplo, pueden aparecer efectos sinérgicos con otras sustancias inmunomoduladoras o antiinflamatorias, por ejemplo cuando se usan en combinación con ciclosporina, rapamicina o ascomicina o análogos inmunosupresores de los mismos, por ejemplo ciclosporina A (CsA), ciclosporina G, FK-506, rapamicina o compuestos comparables, corticoesteroides, ciclofosfamida, 15-
15 azatioprina, metotrexato, brequinar, lefluromida, mizoribina, ácido micofenólico, mofetil de micofenolato, 15-desoxiespergualina, anticuerpos inmunosupresores, especialmente anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, por ejemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 o sus ligandos, u otros compuestos inmunomoduladores, tales como CTLA41 g. Cuando los compuestos de la invención se administran junto con otras terapias, las dosificaciones de los compuestos coadministrados variarán por supuesto dependiendo del tipo de
20 cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la afección a tratar y así sucesivamente.

[0078] La invención también proporciona combinaciones farmacéuticas, por ejemplo un kit, que comprenden a) un primer agente que es un compuesto de la invención como se describe en la presente memoria, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un co-agente. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

25 **[0079]** Las expresiones "co-administración" o "administración combinada" o similares como se utilizan en la presente memoria pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un paciente único y se pretende que incluyan regímenes de tratamiento en los que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

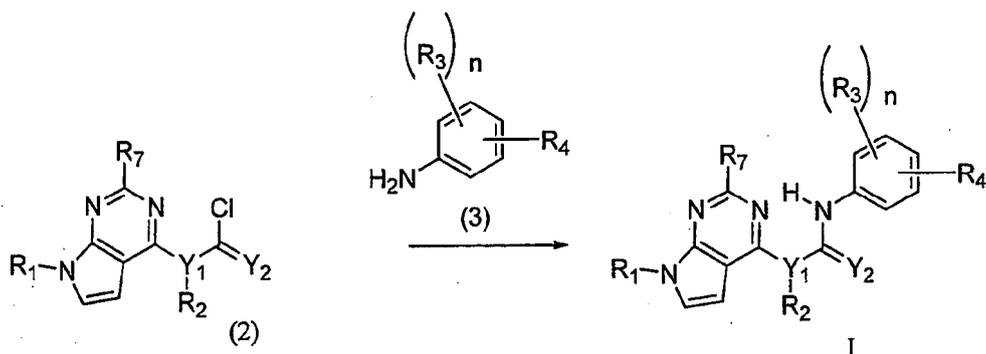
30 **[0080]** La expresión "combinación farmacéutica" como se usa en la presente memoria significa un producto que resulta de la mezcla o combinación de más de un principio activo e incluye combinaciones fijas o no fijas de los principios activos. La expresión "combinación fija" significa que los principios activos, por ejemplo un compuesto de Fórmula I y un co-agente, se administran ambos a un paciente de forma simultánea en forma de una entidad o dosificación única. La expresión "combinación no fija" significa que los principios activos, por ejemplo un compuesto de Fórmula I y un coagente, se administran ambos a un paciente como entidades separadas simultáneamente, al mismo tiempo o secuencialmente sin límites de tiempo específicos, proporcionando dicha administración niveles
35 terapéuticamente eficaces de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último también se aplica a terapia de cóctel, por ejemplo administración de tres o más principios activos.

Procedimientos para Elaborar Compuestos de la Invención

40 **[0081]** La presente invención también incluye procedimientos para la preparación de compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger los grupos funcionales reactivos, por ejemplo los grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando éstos se desea en el producto final, para evitar su participación indeseada en las reacciones. Los grupos protectores convencionales pueden usarse de acuerdo con la práctica convencional, por ejemplo, véase T. W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

[0082] Los compuestos de Fórmula I pueden prepararse procediendo como en el siguiente Esquema de Reacción I:

Esquema de Reacción I



[0083] en el que n, R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, Y₁ e Y₂ son como se han definido en la Descripción Resumida de la Invención. Un compuesto de Fórmula I puede sintetizarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 2 con un compuesto de fórmula 3 en presencia de un disolvente adecuado (por ejemplo, diclorometano y similares) y una base adecuada (por ejemplo, diisopropiletilamina y similares). La reacción se desarrolla en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C y puede tardar en completarse aproximadamente 10 horas. La mezcla de reacción se hace reaccionar opcionalmente de forma adicional para eliminar cualquier grupo protector.

[0084] Pueden encontrarse ejemplos detallados de la síntesis de un compuesto de Fórmula I en los Ejemplos, a continuación.

Procedimientos Adicionales para Elaborar Compuestos de la Invención

[0085] Un compuesto de la invención puede prepararse en forma de una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Como alternativa, puede prepararse una sal de adición de bases farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable.

[0086] Como alternativa, las formas de sal de los compuestos de la invención pueden prepararse usando sales de los materiales o intermedios de partida.

[0087] Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de la forma de sal de adición de bases o de sal de adición de ácidos correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácidos puede convertirse en la base libre correspondiente por tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, una solución de hidróxido de amonio, hidróxido sódico y similares). Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de bases puede convertirse en el ácido libre correspondiente por tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

[0088] Los compuestos de la invención en forma no oxidada pueden prepararse a partir de N-óxidos de compuestos de la invención por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenil fosfina, borohidruro de litio, borohidruro sódico, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) de 0 a 80°C.

[0089] Los derivados de profármacos de los compuestos de la invención pueden prepararse por procedimientos conocidos por los expertos en la materia (por ejemplo, para más detalles, véase Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, pág. 1985). Por ejemplo, los profármacos apropiados pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto no derivatizado de la invención con un agente de carbamitación adecuado (por ejemplo, clorhidrato de 1,1-aciloxialquilcarbano, carbonato de para-nitrofenilo o similares).

[0090] Los derivados protegidos de los compuestos de la invención pueden prepararse por medios conocidos por los expertos en la materia. Una descripción detallada de técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación puede encontrarse en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

[0091] Los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante el procedimiento de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente por recristalización en una mezcla de disolvente acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos, tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

5 [0092] Los compuestos de la invención pueden prepararse en forma de sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoméricos, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de enantiómeros puede realizarse usando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente teniendo en cuenta de estas diferencias. Los diastereómeros pueden separarse por cromatografía, o preferiblemente, por técnicas de separación/resolución basadas en diferencias en la solubilidad. Después, el enantiómero ópticamente puro se recupera, junto con el agente de resolución, por 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 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.

10 [0093] En resumen, los compuestos de Fórmula I pueden prepararse mediante un procedimiento que incluye:

15 (a) el esquema de reacción I; y

(b) convertir opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;

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

(d) convertir opcionalmente una forma sin oxidar de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;

(e) convertir opcionalmente una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma sin oxidar;

20 (f) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención de una mezcla de isómeros;

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

(h) convertir opcionalmente un derivado de profármaco de un compuesto de la invención en su forma sin derivatizar.

25 [0094] Cuando no se describe particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o pueden prepararse de forma análoga a procedimientos conocidos en la técnica o como se describe en los Ejemplos en lo sucesivo en este documento.

30 [0095] Un experto en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son únicamente representativas de procedimientos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que pueden usarse de forma similar otros procedimientos bien conocidos.

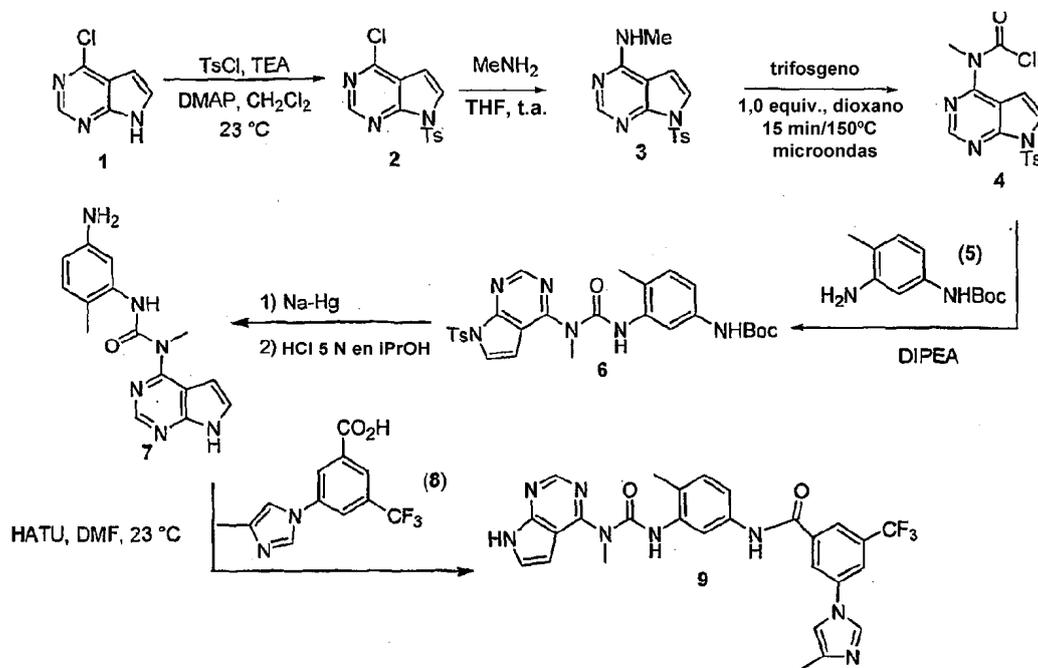
Ejemplos

[0096] La presente invención se ejemplifica adicionalmente, pero sin limitación, por los siguientes ejemplos que ilustran la preparación de compuestos de Fórmula I de acuerdo con la invención.

Ejemplo 1

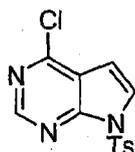
Síntesis de 3-(4-metil-imidazol-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil}-5-trifluorometil-benzamida

[0097]



5 4-Cloro-7-(tolueno-4-sulfonyl)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina

[0098]



10 [0099] A una solución de 6-cloro deazapurina (2,0 g, 13 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (65 ml) se le añaden trietilamina (1,98 ml, 14,3 mmol, 1,1 equiv.) y 4-dimetilamino piridina (catalítica). A la mezcla de reacción se le añade en porciones cloruro de tosilato (2,55 g, 13,4 mmol, 1,03 equiv.) que se equilibra adicionalmente durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título 2. El compuesto del título se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 Metil-[7-(tolueno-4-sulfonyl)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il]-amina

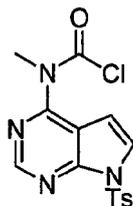
[0100]



5 **[0101]** Se añade metil amina (6,6 ml de 2,0 M en THF, 13,1 mmol, 2,4 equiv.) a una solución de 2 (1,7 g, 5,5 mmol, 1,0 equiv.) en THF (5 ml) a 23°C. La reacción se agita adicionalmente durante 3 horas a temperatura ambiente, después de lo cual el residuo sólido se reparte entre acetato de etilo y agua. Las capas orgánicas se separan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título. El residuo se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

N-Clorocarbonil-N-metil-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il]-amina

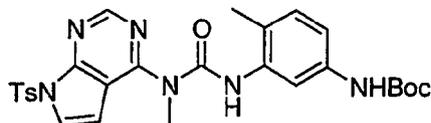
[0102]



10 **[0103]** Un vial Smith (2,5 ml) que contiene 3 (0,250 g, 0,82 mmol, 1,0 equiv.), trifosgeno (0,24 g, 0,82 mmol, 1,0 equiv.) y dioxano (2 ml) se somete a calentamiento por microondas usando un sintetizador Smith a 150°C durante un periodo de 20 minutos. Después, la mezcla de reacción se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 Éster terc-butílico del ácido (4-metil-3-{3-metil-3-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il]-ureido}-fenil)-carbámico

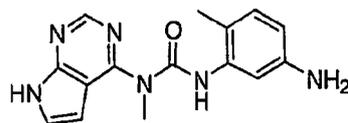
[0104]



20 **[0105]** A una solución de 5 (0,182 g, 0,82 mmol, 1,0 equiv.) y diisopropiletilamina (0,14 ml, 0,82 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (2,0 ml) a 23°C se le añade gota a gota el cloruro de carbamoilo 4 (0,3 g, 0,82 mmol, 1,0 equiv.) durante un periodo de 15 minutos. La mezcla de reacción se agita adicionalmente a temperatura ambiente durante un periodo de 8 horas después de lo cual se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

25 3-(5-Amino-2-metil-fenil)-1-metil-1-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-urea

[0106]



30 **[0107]** A la urea en crudo 6 (3,2 g, 5,8 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (30 ml) se le añade HCl 5-6 N en isopropanol (11,6 ml, 58 mmol, 10,0 equiv.) para dar lugar a una solución transparente. La mezcla de reacción se agita adicionalmente a 23°C durante 30 minutos conduciendo a la precipitación del producto. La masa de reacción se concentra al vacío y se neutraliza mediante una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. Los extractos orgánicos se extraen usando acetato de etilo como disolvente, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto des-boc (desprotegido).

35 **[0108]** A una solución de amina primaria en crudo (2,3 g, 5,1 mmol, 1,0 equiv.) disuelta en (1:1 de THF:MeOH) se le añade Na-Hg (3,5 g, 3,0 equiv. en base a Na). La reacción se agita durante 15 minutos, después de lo cual la mezcla de

reacción se decanta para eliminar las sales de mercurio y el líquido sobrenadante se concentra a presión reducida. El residuo sólido se reparte entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra para dar el producto en crudo. El producto en crudo se purifica por cromatografía en columna ultrarrápida usando un gradiente 9:1 v/v de CH_2Cl_2 :MeOH como disolvente para dar el compuesto 7 del título en forma de un sólido.

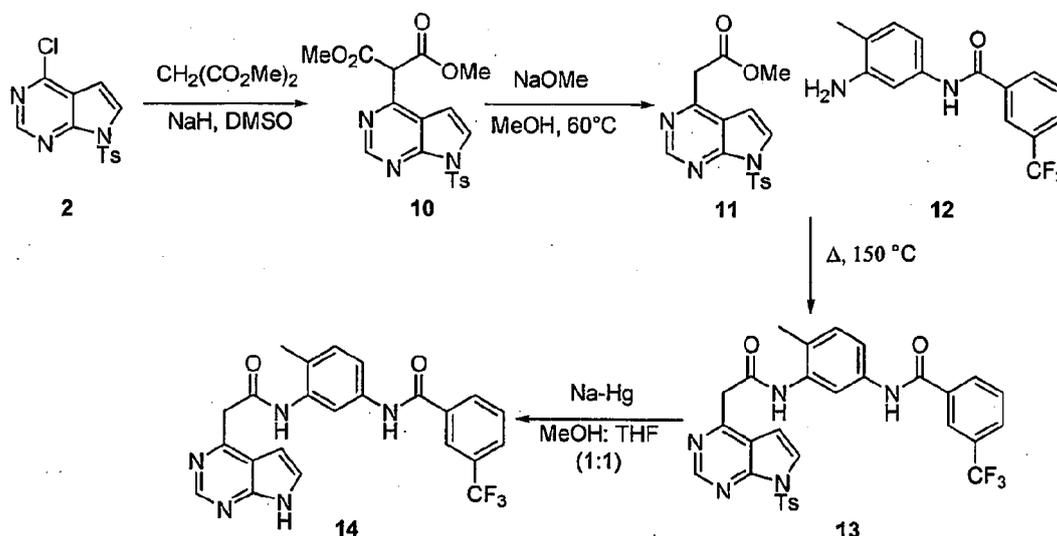
5 3-(4-Metil-imidazol-1-il)-N-{4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrololo[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]fenil}-5-trifluorometil-benzamida

10 **[0109]** A una solución de 7 (7 mg, 0,23 mmol, 1,0 equiv.), ácido 3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-benzoico (7,6 mg, 0,27 mmol, 1,2 equiv.) y DIPEA (40 μl , 0,27 mmol, 1,2 equiv.) en DMF (0,5 ml) se le añade HATU (9,9 mg, 0,25 mmol, 1,1 equiv.). Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, el disolvente se elimina al vacío. El residuo se disuelve en DMSO (1 ml). La solución resultante se somete a purificación por LC-MS de fase inversa para producir el compuesto del título en forma de una sal TFA: ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) δ 12,81 (s a, 1H), 12,28 (s a, 1H), 10,52 (s a, 1H), 9,40 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,40 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,19 (d, J = 8,32 Hz, 1H), 6,78 (m, 1H) 3,05 (s, 3H), 2,30 (s, 3H) 2,27 (s, 3H); MS m/z 549,2 (M+1).

Ejemplo 2

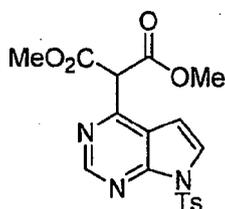
15 Síntesis de N-[4-metil-3-(2-7H-pirrololo[2,3-d]pirimidin-4-il)-acetilamino]-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

[0110]



Éster dimetílico del ácido 2-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrololo[2,3-d]pirimidin-4-il]-malónico

[0111]



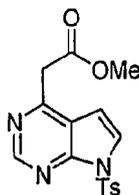
20

[0112] A la suspensión de NaH (25 mg, 0,62 mmol, 3,1 equiv.) en DMSO (2,0 ml) se le añade malonato de dimetilo (0,071 ml, 0,62 mmol, 3,1 equiv.) a 23°C. Después de que cese el desprendimiento de hidrógeno, se añade 2 (64 mg, 20 mmol, 1,0 equiv.). La reacción se equilibra adicionalmente a 80°C durante 3 horas. Después, la reacción se enfría a temperatura ambiente y se interrumpe con NH_4Cl saturado. Los extractos orgánicos se extraen usando acetato de etilo como disolvente, se secan sobre Na_2SO_4 , se filtran y se concentran para dar el producto deseado (79 mg, 94%).

25

Éster metílico del ácido 7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il]-acético

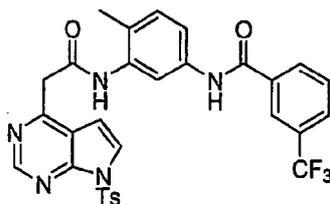
[0113]



5 [0114] Una mezcla de 10 (0,63 g, 1,56 mmol, 1,0 equiv.) y metóxido sódico (0,038 ml de una solución al 25% p/v, 0,16 mmol, 0,1 equiv.) en MeOH (15 ml) se calienta a 60°C durante 1 hora. Después de lo cual, la reacción se concentra y el residuo se extrae con acetato de etilo después de la interrupción con NH₄Cl. La capa orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El producto en crudo se purifica usando hexanos:acetato de etilo (2:1) como disolvente para dar el producto deseado.

10 N-(1-Metileno-3-{2-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il]-acetilamino}-pent-2-enil)-3-trifluorometil-benzamida

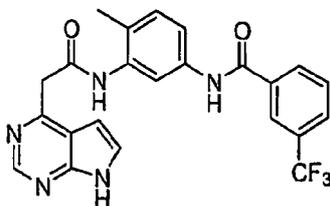
[0115]



15 [0116] Una mezcla de 11 (60 mg, 0,17 mmol, 1,0 equiv.) y 12 (153 mg, 0,51 mmol, 3,0 equiv.) se calienta a 150°C durante un periodo de 4 horas. En este momento, la reacción está completa, después de lo cual la masa de reacción se enfría a temperatura ambiente. El producto en crudo se purifica usando hexanos:acetato de etilo (2:1) como disolvente para dar el producto deseado.

[4-Metil-3-(2-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-acetilamino]-fenil]-amida del ácido 5,5,5-trifluoro-2-metil-pent-2-enoico

[0117]



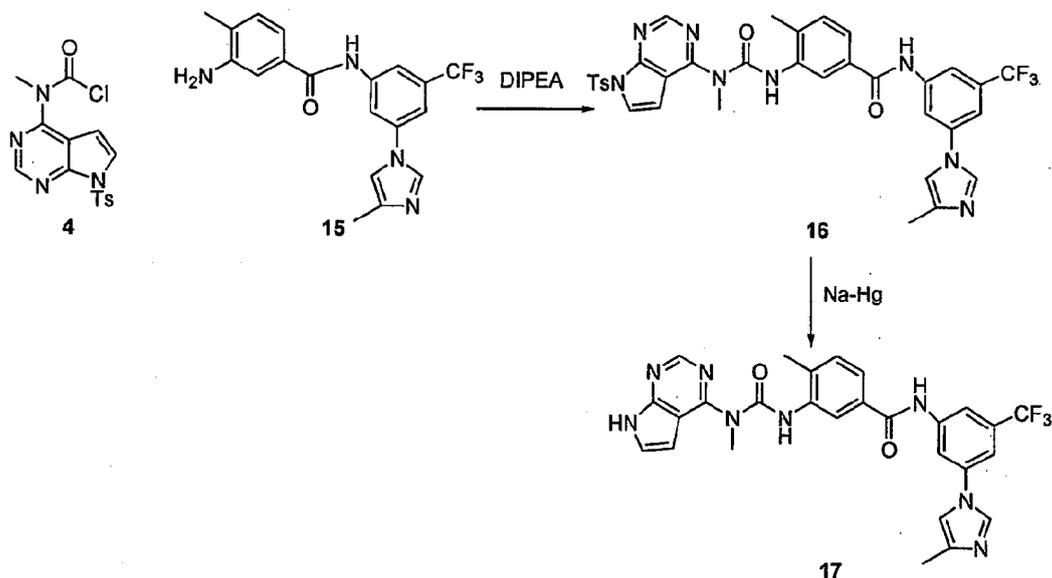
20 [0118] A una solución de 13 (61 mg, 0,1 mmol, 1,0 equiv.) disuelta en (1:1 de THF:MeOH) se le añade Na-Hg (172 mg, 7,0 equiv. en base a Na). La reacción se agita durante 30 minutos, después de lo cual la mezcla de reacción se decanta para eliminar las sales de mercurio y el líquido sobrenadante se concentra a presión reducida. El residuo sólido se reparte entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra para dar el producto en crudo. Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, el disolvente se elimina al vacío. El residuo se disuelve en DMSO (1 ml). La solución resultante se somete a purificación por LC-MS de fase inversa para producir el compuesto del título en forma de una sal TFA: MS m/z 454,2 (M+1).

25

Ejemplo 3

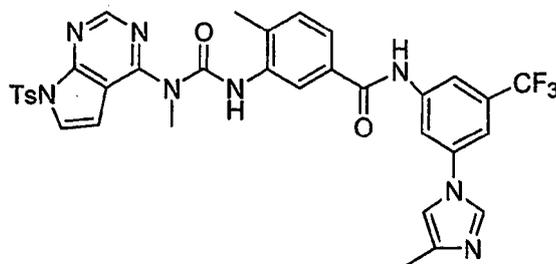
Síntesis de N-(3-imidazol-1-il-5-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida

[0119]



5 4-Metil-N-[3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-3-[3-metil-3-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il]-ureido]-benzamida

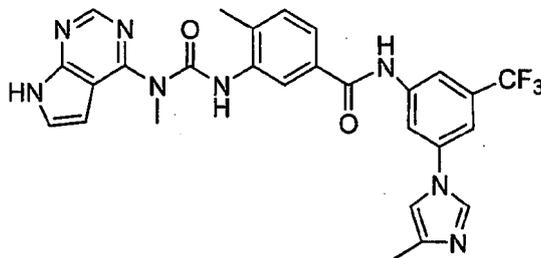
[0120]



10 [0121] A una solución de 15 (15 mg, 0,04 mmol, 1,0 equiv.) y diisopropiletilamina (6,8 ml, 0,04 mmol, 1,0 equiv.) en
 15 diclorometano (0,5 ml) a 23°C se le añade gota a gota el cloruro de carbamoilo 4 (14,5 mg, 0,04 mmol, 1,0 equiv.)
 durante un periodo de 15 minutos. La mezcla de reacción se agita adicionalmente a temperatura ambiente durante un
 periodo de 8 horas, después de lo cual se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa
 acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄,
 se filtran y se concentran para dar el producto del título 16. El residuo se usa en la siguiente etapa sin purificación
 adicional.

4-Metil-N-[3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-3-[3-metil-3-(7H-pirrololo[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida

[0122]

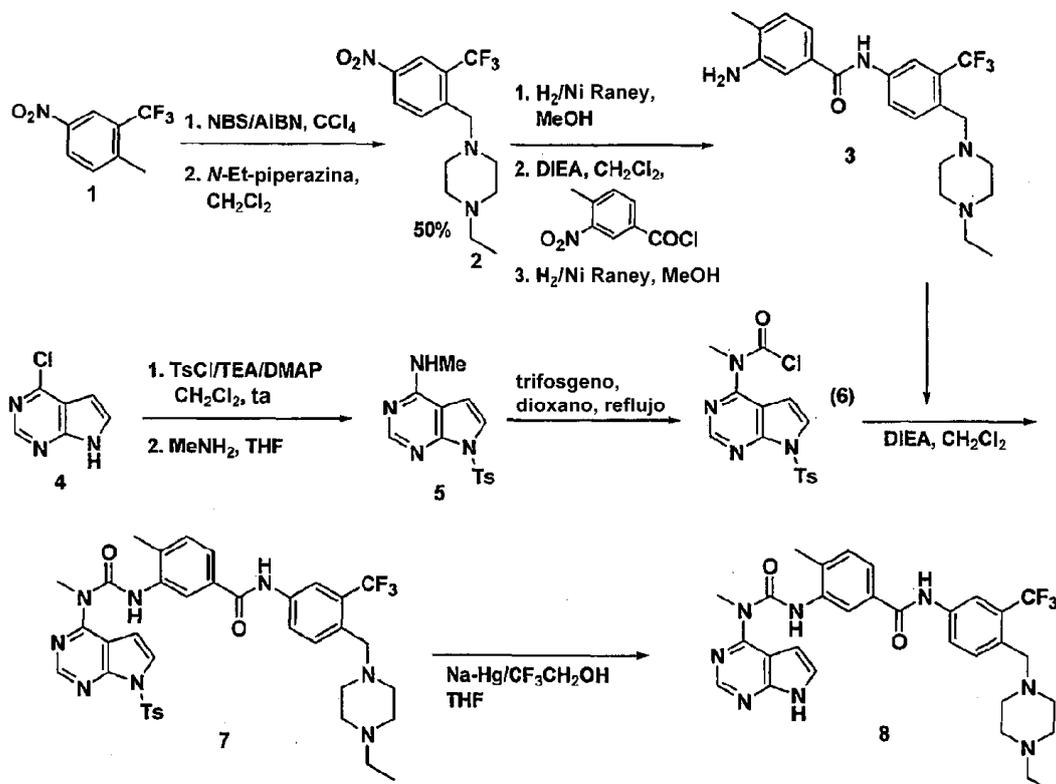


5 [0123] A una solución de 16 (22 mg, 0,031 mmol, 1,0 equiv.) disuelta en (1:1 de THF: MeOH) se le añade Na-Hg (22 mg, 2,0 equiv. en base a Na). La reacción se agita durante 30 minutos, después de lo cual la mezcla de reacción se decanta para eliminar las sales de mercurio y el líquido sobrenadante se concentra a presión reducida. El residuo sólido se reparte entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra para dar el producto en crudo. Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, el disolvente se elimina al vacío. El residuo se disuelve en DMSO (1 ml). La solución resultante se somete a purificación por LC-MS de fase inversa para producir el compuesto del título en forma de una sal TFA: MS m/z 549,2 (M+1).

Ejemplo 4

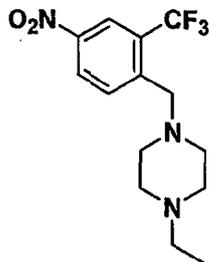
Síntesis de N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrololo[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida

[0124]



1. 1-Etil-4-(4-nitro-2-trifluorometil-bencil)-piperazina

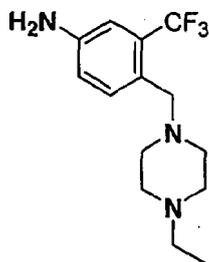
[0125]



5 [0126] A una solución de 1-metil-4-nitro-2-trifluorometil-benceno (1; 15 g, 73 mmol, 1,0 equiv.) en tetracloruro de carbono (250 ml) se le añaden NBS (13 g, 98 ml, 73 mmol, 1,0 equiv.) y AIBN (1,19 g, 7,3 mmol, 0,1 equiv.) como iniciador. La reacción se calienta a reflujo durante una noche y después se reparte con agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar los sólidos. Los sólidos se disuelven en diclorometano (300 ml). La solución transparente se trata con DIEA (12,55 ml, 73 mmol, 1,0 equiv.) y *N*-etilpiperazina (8,25 g, 73 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos (hasta que la reacción se completa tal como se determina por LCMS). La mezcla de reacción se lava con agua, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra para dar el producto en crudo. El producto en crudo se purifica por cromatografía en columna ultrarrápida usando 1:1 v/v de hexanos:acetato de etilo como disolvente para dar el compuesto del título 2 en forma de un sólido.

2. 4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenilamina

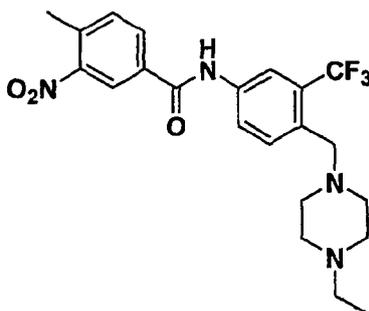
[0127]



15 [0128] A una solución de 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenilamina (10 g, 31,54 mmol, 1,0 equiv.) en MeOH (250 ml) se le añade Níquel Raney (1,0 g, 10% en peso). La suspensión se agita en una atmósfera de hidrógeno (1 atmósfera) durante 24 horas. Al final de la reacción, tal como se indica por LCMS, la masa de reacción se filtra sobre celite y el filtrado se concentra a presión reducida para producir el producto deseado.

20 3. N-[4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-nitro-benzamida

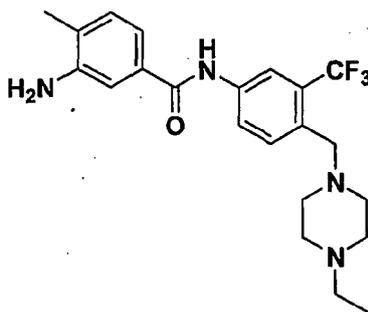
[0129]



5 **[0130]** A una solución de 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenilamina (8,0 g, 27,9 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (140 ml) se le añade diisopropiletil amina (5,27 ml, 30,69 mmol, 1,1 equiv.). La solución se enfría a 0°C, después de lo cual a la mezcla de reacción se le añade en porciones cloruro de 4-metil-3-nitrobenzoílo (4,18 ml, 28,73 mmol, 1,03 equiv.) y se equilibra adicionalmente durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto deseado que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

4. 3-Amino-N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-benzamida

[0131]

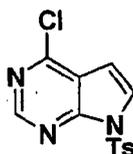


10

15 **[0132]** A una solución de N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometilfenil]-4-metil-3-nitro-benzamida (10 g, 22,2 mmol, 1,0 equiv.) en MeOH (250 ml) se le añade Níquel Raney (1,0 g, 10% en peso). La suspensión se agita en una atmósfera de hidrógeno (1 atmósfera) durante 24 horas. Al final de la reacción, tal como se indica por HPLC, la masa de reacción se filtra sobre celite y el filtrado se concentra a presión reducida para producir el producto deseado 3: ¹H RMN 400 MHz (DMSO-d₆) δ 10,24 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,02 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,13 (m, 2H), 5,1 (s, 2H), 3,55 (s, 2H), 2,37 (m, 10H) 2,11 (s, 3H), 1,05 (t, 3H).

5. 4-Cloro-7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina

[0133]



20 **[0134]** A una solución de 6-cloro deazapurina (4, 10,0 g, 65 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (325 ml) se le añaden trietilamina (9,9 ml, 71,5 mmol, 1,1 equiv.) y 4-dimetilamino piridina (catalítico). A la mezcla de reacción se le añade en porciones cloruro de tosilo (12,76 g, 66,9 mmol, 1,03 equiv.) y se equilibra adicionalmente durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

25

6. Metil-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il]-amina

[0135]

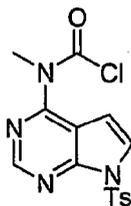


30 **[0136]** Se añade metil amina (66 ml de 2,0 M en THF, 13,1 mmol, 2,4 equiv.) a una solución de 4-cloro-7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (17 g, 55 mmol, 1,0 equiv.) en THF (50 ml) a 23°C. La reacción se agita adicionalmente durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de que se complete la reacción, el THF se elimina a

presión reducida y el residuo sólido se reparte entre acetato de etilo:THF (1:1) y agua. Las capas orgánicas se separan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título 5 que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

***N*-Clorocarbonil-*N*-metil-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]-amina**

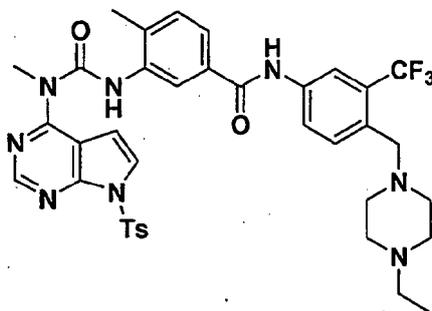
5 [0137]



10 [0138] Un vial Smith (20 ml) que contiene 5 (2,50 g, 8,2 mmol, 1,0 equiv.), trifosgeno (2,4 g, 8,2 mmol, 1,0 equiv.) y dioxano (15 ml) se somete a calentamiento por microondas usando un sintetizador Smith a 150°C durante un periodo de 20 minutos. La mezcla de reacción se concentra. Después, el residuo se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto del título 6 que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

***N*-[4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-{3-metil-3-[7-(tolueno-4-sulfonil)-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il]-ureido)-benzamida**

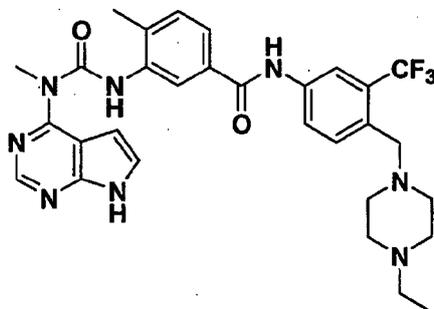
15 [0139]



20 [0140] A una solución de 3 (3,45 g, 8,2 mmol, 1,0 equiv.) y piridina (0,66 ml, 0,82 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (40 ml) a 23°C se le añade gota a gota cloruro de carbamoilo 6 (3 g, 8,2 mmol, 1,0 equiv.) durante un periodo de 15 minutos. La mezcla de reacción se agita adicionalmente a temperatura ambiente durante un periodo de 8 horas después de lo cual se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para proporcionar el producto en crudo 7. El residuo se purifica usando cromatografía en columna con MeOH/CH₂Cl₂ (5:1) como eluyente para dar el producto del título 7.

N-[4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida

[0141]

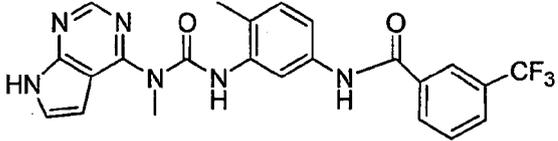
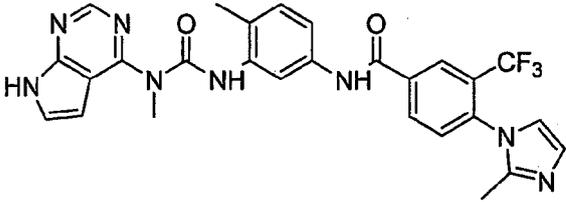
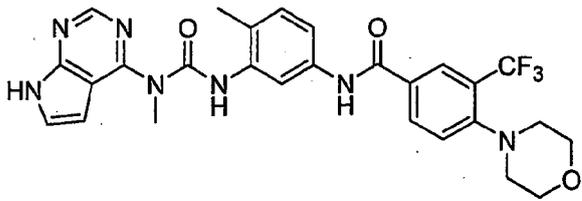
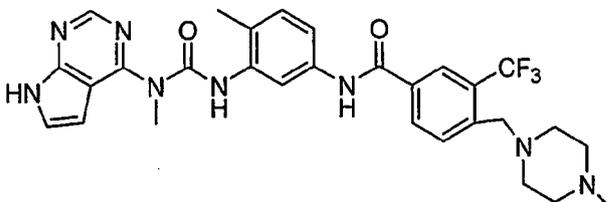
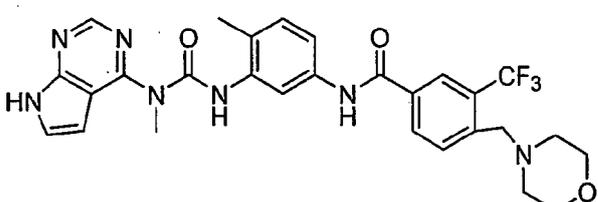
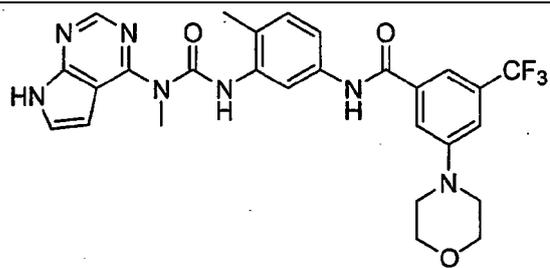


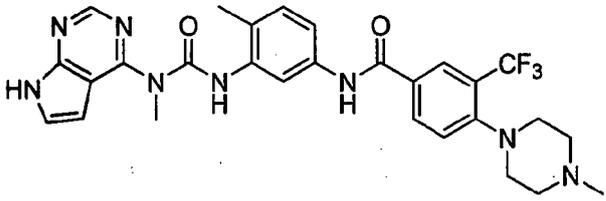
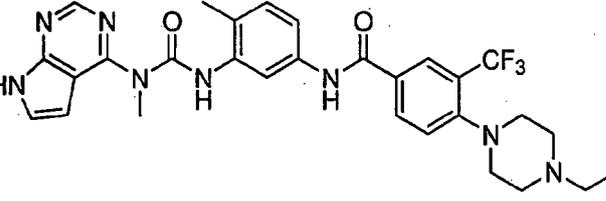
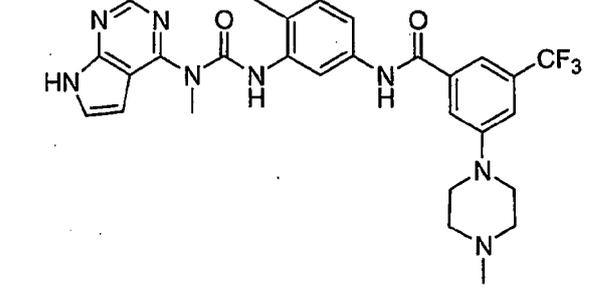
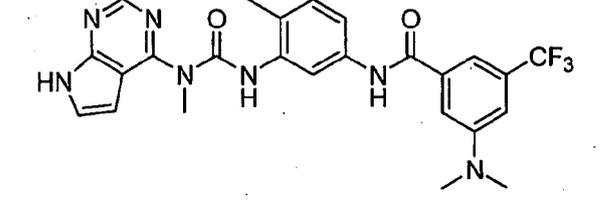
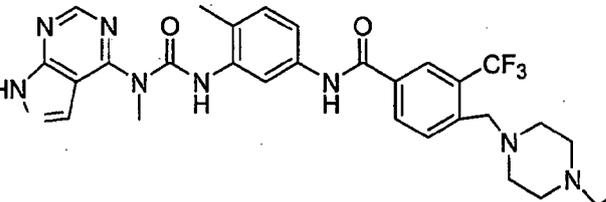
5 **[0142]** A la urea tosilada 7 (1,5 g, 2,0 mmol, 1,0 equiv.) disuelta en THF (10 ml) se le añade Na-Hg (0,92 g, 2,0 equiv. en base a Na) seguido de trifluoroetanol (291 μ l, 4,0 mmol, 2,0 equiv.) La reacción se agita durante 15 minutos, se decanta para eliminar las sales de mercurio y el líquido sobrenadante se concentra a presión reducida. El residuo sólido se reparte entre acetato de etilo y agua. Las capas orgánicas se separan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran para dar el producto en crudo. El producto en crudo se purifica por HPLC preparativa para dar el compuesto del título 8: ¹H RMN 400 MHz (DMSO-d₆) δ 12,98 (s a, 1H), 12,42 (s a, 1H), 10,52 (s a, 1H), 8,68 (s, 1H) 8,65 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,11 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,6 (m, 1H), 7,47 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,9 (m, 1H), 3,78 (s, 3H) 3,62 (s, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,43-2,35 (m, 10H), 1,04 (t, J = 6,9 Hz, 3H), MS *m/z* 595,3 (M+1).

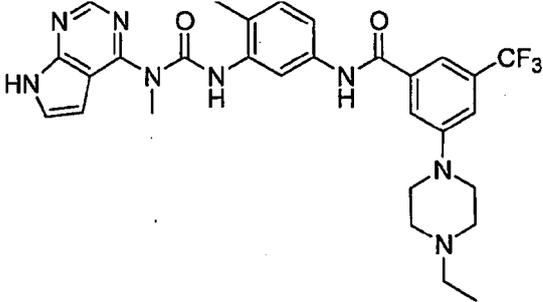
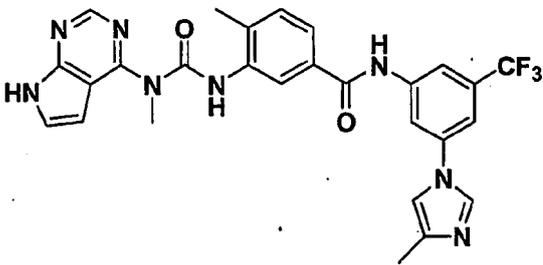
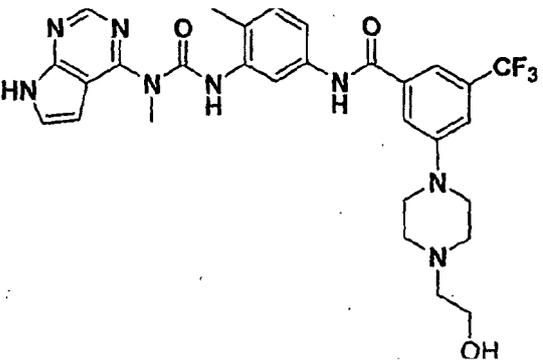
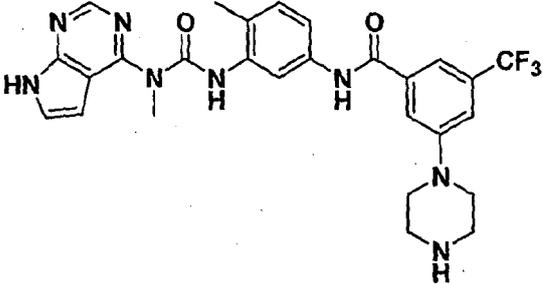
10

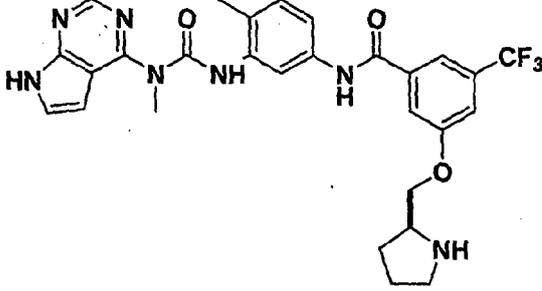
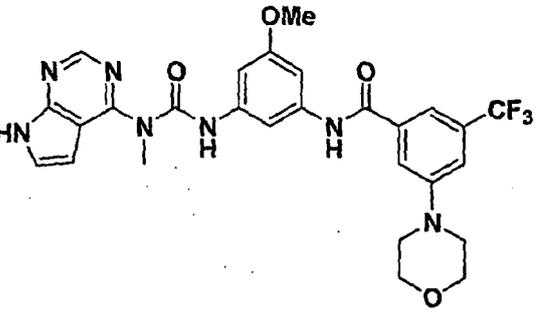
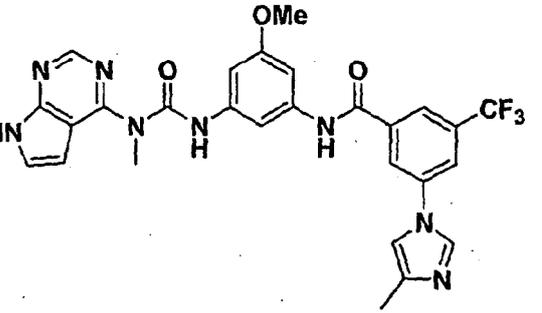
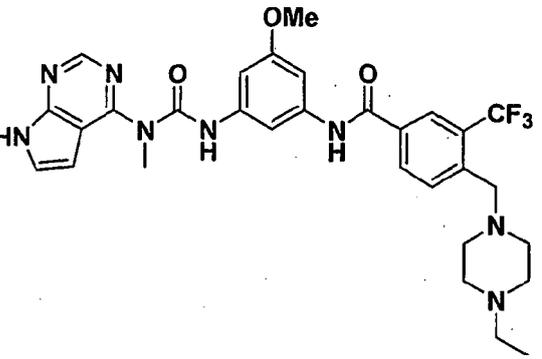
[0143] Repitiendo los procedimientos que se han descrito en los ejemplos anteriores, usando los materiales de partida apropiados, se obtienen los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifican en la Tabla 1.

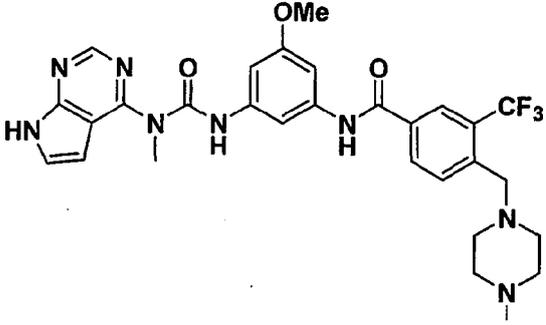
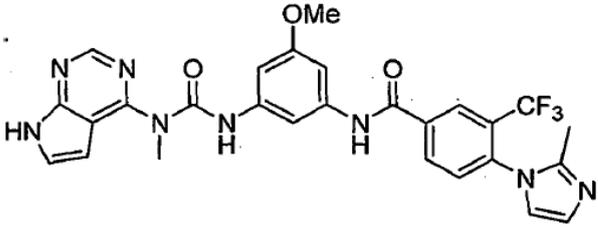
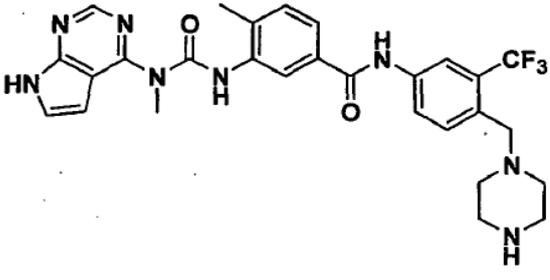
Tabla 1

Nº	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) y/o MS (m/z)
5		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 11,19 (s a, 1H), 9,71 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,32 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,6 (m, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,8 (m, 1H) 3,69 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), MS m/z 469,2 (M+1).
6		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,89 (s a, 1H), 12,36 (s a, 1H), 10,73 (s a, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,53 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 8,49 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,83 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,85 (m, 1H) 3,73 (s, 3H), 2,41 (s, 3H) 2,37 (s, 3H), MS m/z 549,2 (M+1).
7		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,72 (s a, 1H), 12,27 (s a, 1H), 10,31 (s a, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,36 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,2 (s, 1H), 8,18 (m, 1H), 7,58 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,14 (d, J = 8,53 Hz, 1H), 6,77 (m, 1H) 3,67 (m, 4H), 3,63 (s, 3H) 2,28 (s, 3H), MS m/z 554,2 (M+1).
8		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,70 (s a, 1H), 12,28 (s a, 1H), 10,94 (s a, 1H), 9,46 (s, 1H) 8,50 (s, 1H), 8,37 (d, J = 1,53 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,2 (d, J = 7,5 Hz), 7,84 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,15 (d, J = 8,53 Hz, 1H), 6,77 (m, 1H), 3,72 (s, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,36 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,75 (s, 3H), 2,34 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), MS m/z 581,2 (M+1).
9		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,72 (s a, 1H), 12,27 (s a, 1H), 10,31 (s a, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,36 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,2 (s, 1H), 8,18 (m, 1H), 7,58 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,14 (d, J = 8,53 Hz, 1H), 6,77 (m, 1H) 3,67 (m, 4H), 3,63 (s, 3H) 2,28 (s, 3H), MS m/z 568,2 (M+1).
10		MS m/z 554,2,4 (M+1).

Nº	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) y/o MS (m/z)
11		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,76(s a, 1H), 12,28 (s a, 1H), 10,36 (s a, 1H), 9,71 (s, 1H) 8,50 (s, 1H), 8,36 (d, J = 2,53 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,21 (d, J = 1,7 Hz), 7,61 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,15 (d, J = 8,53 Hz, 1H), 6,78 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,47 (m, 4H), 3,1 (m, 4H), 2,84 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), MS m/z 567,2 (M+1).
12		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) □ 12,76 (s a, 1H), 12,28 (s a, 1H), 10,36 (s a, 1H), 9,52 (s, 1H) 8,50 (s, 1H), 8,36 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,24 (m, 2H), 7,61 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,44 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,19 Hz, 1H), 6,77 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,53 (c, 2H), 3,20 (m, 4H), 3,68 (m, 4H), 2,28 (s, 3H), 1,19 (t, J = 6,8 Hz, 3H), MS m/z 581,2 (M+1).
13		MS m/z 567,2 (M+1).
14		MS m/z 520,2 (M+1).
15		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,70 (s a, 1H), 12,28 (s a, 1H), 10,40 (s a, 1H), 9,24 (s, 1H) 8,24 (s, 1H), 8,20 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,15 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,7 (m, 1H), 3,70 (m, 2H) 3,66 (s, 3H), 3,39 (m, 2H), 3,08 (m, 2H), 2,88 (m, 4H), 2,36 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 1,49 (t, J = 6,8 Hz, 3H), MS m/z 595,3 (M+1).

Nº	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) y/o MS (m/z)
16		¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) δ 12,85 (s a, 1H), 12,36 (s a, 1H), 10,39 (s a, 1H), 9,58 (s, 1H) 8,50 (s, 1H), 8,43 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,50 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 6,85 (m, 1H), 4,14 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,61 (m, 2H), 3,23 (m, 2H), 3,14 (m, 4H), 2,30 (s, 3H), 1,27 (t, J = 7,3 Hz, 3H), MS m/z 581,2 (M+1).
17		MS m/z 549,2 (M+1)
18		MS m/z 597,3 (M+1)
19		MS m/z 553,2 (M+1)

Nº	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) y/o MS (m/z)
20		MS m/z 568,2 (M+1)
21		MS m/z 570,2 (M+1)
22		MS m/z 565,2 (M+1)
23		MS m/z 611,3 (M+1)

Nº	Estructura	Datos Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) y/o MS (m/z)
24		MS m/z 597,3 (M+1)
25		MS m/z 565,2 (M+1)
26		MS m/z 567,2 (M+1)

Ensayos

5 **[0144]** Los compuestos de la presente invención se ensayan para medir su capacidad para inhibir selectivamente la proliferación celular de células 32D que expresan BCR-Abl (32D-p210) en comparación con células 32D parentales. Los compuestos que inhiben selectivamente la proliferación de estas células transformadas con BCR-Abl se ensayan con respecto a actividad antiproliferativa en células Ba/F3 que expresan las formas no mutantes o mutantes de Bcr-abl.

Inhibición de proliferación celular dependiente de BCR-Abl (procedimiento de Alto Rendimiento)

10 **[0145]** La línea celular murina usada es la línea celular progenitora hematopoyética 32D transformada con ADNc de BCR-Abl (32D-p210). Estas células se mantienen en suero de ternero fetal al 10%/RPMI (RPMI/FCS) complementado con penicilina 50 mg/ml, estreptomycin 50 mg/ml y L-glutamina 200 mM. Las células 32D no transformadas se mantienen de forma similar con la adición de 15% de medio acondicionado con WEHI como una fuente de IL3.

15 **[0146]** Se siembran en placas 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 solución madre de DMSO) a cada pocillo (se incluye ST1571 como un control positivo). Las células se incuban durante 72 horas a 37°C, CO₂ al 5%. Se añaden 10 µl de una solución de Alamar Blue al 60% (Tek diagnostics) a cada pocillo y las células se incuban durante 24 horas adicionales. La intensidad de fluorescencia (Excitación a 530 nm, Emisión a 580 nm) se cuantifica usando el sistema Acquest™ (Molecular Devices).

Inhibición de proliferación celular dependiente de BCR-Abl

20 **[0147]** Se siembran en placas células 32D-p210 en placas TC de 96 pocillos a una densidad de 15.000 células por pocillo. Se añaden 50 µl de diluciones en serie dos veces del compuesto de ensayo (C_{max} es 40 µM) a cada pocillo (se incluye ST1571 como un control positivo). Después de incubar las células durante 48 horas a 37°C, CO₂ al 5%, se

añaden 15 μ l de MTT (Promega) a cada pocillo y las células se incuban durante 5 horas adicionales. La densidad óptica a 570 nm se cuantifica de forma espectrofotométrica y los valores de CI_{50} , la concentración de compuesto requerida para la inhibición del 50%, se determinan a partir de una curva de respuesta a dosis.

Efecto sobre la distribución del ciclo celular

- 5 **[0148]** Se siembran en placas 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 compuesto de ensayo a 1 ó 10 μ M (se incluye STI571 como control). Las células se incuban después durante 24 ó 48 horas a 37°C, CO_2 al 5%, se lavan 2 ml de suspensión celular con PBS, se fijan en EtOH al 70% durante 1 hora y se tratan con PBS/EDTA/RNasa A durante 30 minutos. Se añade yoduro de propidio ($C_f = 10$ μ g/ml) y se cuantifica la intensidad de fluorescencia mediante citometría de flujo en el sistema FACScalibur™ (BD Biosciences). Los compuestos de ensayo de la presente invención demuestran un efecto apoptótico en las células 32D-p210 pero no inducen apoptosis en las células parentales 32D.

Efecto sobre la Autofosforilación Celular de BCR-Abl

- 15 **[0149]** La autofosforilación de BCR-Abl se cuantifica con Elisa de captura usando un anticuerpo de captura específico de c-abl y un anticuerpo antifosfotirosina. Las células 32D-p210 se siembran en placas TC de 96 pocillos a 2×10^5 células por pocillo en 50 μ l de medio. Se añaden 50 μ l de diluciones en serie dos veces de los compuestos de ensayo (C_{max} es 10 μ M) a cada pocillo (se incluye STI571 como un control positivo). Las células se incuban durante 90 minutos a 37°C, CO_2 al 5%. Las células se tratan después durante 1 hora en hielo con 150 μ l de tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, EGTA 1 mM y NP-40 al 1%) que contiene inhibidores de proteasa y fosfatasa. Se añaden 50 μ l de lisado celular a optiplacas de 96 pocillos previamente recubiertas con anticuerpo específico anti-abl y se bloquean. Las placas se incuban durante 4 horas a 4°C. Después de lavar con tampón de TBS-Tween 20, se añaden 50 μ l de anticuerpo anti-fosfotirosina conjugado con fosfatasa alcalina y la placa se incuba adicionalmente durante una noche a 4°C. Después de lavar con tampón TBS-Tween 20, se añaden 90 μ l de un sustrato luminiscente y la luminiscencia se cuantifica usando el sistema Acquest™ (Molecular Devices). Los compuestos de ensayo de la invención que inhiben la proliferación de las células que expresan BCR-Abl, inhiben la autofosforilación de BCR-Abl celular de una manera dependiente de dosis.

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

- 30 **[0150]** Los compuestos de la invención se ensayan con respecto a su efecto antiproliferativo en células Ba/F3 que expresan las formas no mutantes o mutantes de BCR-Abl (G250E, E255V, T315I, F317L, M351T) que confieren resistencia o disminuyen la sensibilidad ante STI571. El efecto antiproliferativo de estos compuestos sobre las células que expresan BCR-Abl mutantes y sobre las células no transformadas se ensayaron a 10, 3,3, 1,1 y 0,37 μ M como se ha descrito anteriormente (en medio sin IL3). Los valores de CI_{50} de los compuestos que carecen de toxicidad en las células no transformadas se determinaron a partir de las curvas de respuesta a dosis obtenidas como se ha descrito anteriormente.

FGFR3 (Ensayo Enzimático)

- 35 **[0151]** Se lleva a cabo un ensayo de actividad quinasa con FGFR3 purificado (Upstate) en un volumen final de 10 μ l que contiene enzima 0,25 μ g/ml en tampón quinasa (Tris-HCl 30 mM, pH 7,5, $MgCl_2$ 15 mM, $MnCl_2$ 4,5 mM, Na_3VO_4 15 mM y BSA 50 μ g/ml) y sustratos (biotina-poli-EY (Glu, Tyr) 5 μ g/ml (CIS-US, Inc.) y ATP 3 μ M). Se preparan dos soluciones: la primera solución de 5 μ l contiene la enzima FGFR3 en tampón de quinasa y se distribuyó primero en ProxiPlate® de formato 384 (Perkin-Elmer) seguido de la adición de 50 nl de los compuestos disueltos en DMSO, después se añadieron 5 μ l de la segunda disolución que contiene el sustrato (poli-EY) y ATP en tampón de quinasa a cada pocillo. Las reacciones se incuban a temperatura ambiente durante 1 hora, se detienen mediante la adición de 10 μ l de mezcla de detección HTRF, que contiene Tris-HCl 30 mM pH 7,5, KF 0,5 M, EDTA 50 mM, BSA 0,2 mg/ml, estreptavidina-XL665 15 μ g/ml (CIS-US, Inc.) y anticuerpo antifosfotirosina conjugado con criptato 150 ng/ml (CIS-US, Inc.). Después de una hora de incubación a temperatura ambiente para permitir la interacción de estreptavidina-biotina, se leen las señales fluorescentes resueltas en el tiempo en Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Los valores de CI_{50} se calculan por análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición de cada compuesto a 12 concentraciones (dilución 1:3 de 50 μ 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 μ M.

FGFR3 (Ensayo Celular)

- 50 **[0152]** Los compuestos de la invención se ensayan con respecto a su capacidad para inhibir la proliferación de células transformadas Ba/F3-TEL-FGFR3, que es dependiente de la actividad quinasa celular de FGFR3. Las Ba/F3-TEL-FGFR3 se cultivan hasta 800.000 células/ml en suspensión, con RPMI 1640 complementado con suero bovino fetal al 10% como medio de cultivo. Las células se distribuyen en una placa de formato de 384 pocillos a 5000 células/pocillo en 50 μ l de medio de cultivo. Los compuestos de la invención se disuelven y diluyen en dimetilsulfóxido (DMSO). Se realizan diluciones seriadas 1:3 de doce puntos en DMSO para crear gradientes de concentración que varían típicamente de 10 mM a 0,05 μ M. Se añaden células con 50 nl de compuestos diluidos y se incuban durante 48 horas en un incubador de cultivo celular. AlamarBlue® (TREK Diagnostic Systems) que puede usarse para controlar el

ambiente reductor creado por las células proliferativas, se añade a las células a una concentración final de 10%. Después de cuatro 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 Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Los valores de CI_{50} se calculan mediante análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición de cada compuesto a 12 concentraciones.

FLT3 y PDGFR β (Ensayo Celular)

[0153] Los efectos de los compuestos de la invención sobre la actividad celular de FLT3 y PDGFR β se realizan usando procedimientos idénticos a los descritos anteriormente para la actividad celular de FGFR3, excepto que en lugar de usar Ba/F3-TEL-FGFR3, se usan Ba/F3-FLT3-ITD y Ba/F3-Tel-PDGFR β , respectivamente.

b-Raf – ensayo enzimático

[0154] Los compuestos de la invención se ensayan con respecto a su capacidad para inhibir la actividad de b-Raf. El ensayo se lleva a cabo en placas de 384 pocillos MaxiSorp (NUNC) con paredes negras y fondo transparente. El sustrato, $\text{IkB}\alpha$ se diluye en DPBS (1:750) y se añaden 15 μl a cada pocillo. Las placas se incuban a 4°C durante una noche y se lavan 3 veces con TBST (Tris 25 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM y Tween-20 0,05%) usando la lavadora de placas EMBLA. Las placas se bloquean mediante Superblock (15 μl /pocillo) durante 3 horas a temperatura ambiente, se lavan tres veces con TBST y se secan con toques suaves. El tampón de ensayo que contiene ATP 20 μM (10 μl) se añade a cada pocillo seguido por 100 nl o 500 nl 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). Las placas se incuban a temperatura ambiente durante 2,5 horas. La reacción de quinasas se detiene mediante el lavado de las placas 6 veces con TBST. Se diluye anticuerpo fosfo- $\text{IkB}\alpha$ (Ser32/36) en Superblock (1:10.000) y se añaden 15 μl . Las placas se incuban a 4°C durante una noche y se lavan 6 veces con TBST. Se diluye IgG de cabra anti-ratón conjugada 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. Las placas se leen en Acquest o Analyst GT usando un Programa de Intensidad de Fluorescencia (Excitación 455 nm, Emisión 580 nm).

b-Raf – ensayo celular

[0155] Los compuestos de la invención se ensayan en células A375 con respecto a su capacidad para inhibir la fosforilación de MEK. La línea celular A375 (ATCC) deriva de un paciente con 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 células A375 en confluencia o en subconfluencia con compuestos durante 2 horas a 37°C en medio sin suero. Las células se lavan después una vez con PBS frío y se lisan con el tampón de lisis que contiene Tritón X100 al 1%. Después de la centrifugación, los sobrenadantes se someten a SDS-PAGE y se transfieren después membranas de nitrocelulosa. Las membranas se someten después a transferencia de western con anticuerpo anti-fosfo-MEK (ser217/221) (señalización celular). La cantidad de MEK fosforilada se controla por la densidad de las bandas de fosfo MEK en las membranas de nitrocelulosa.

KinaseProfiler™ Upstate-Ensayos radioenzimático de unión a filtro

[0156] Los compuestos de la invención se evalúan con respecto a su capacidad para inhibir miembros individuales del protocolo genérico. Obsérvese que la composición de tampón quinasa y los sustratos varían para las diferentes quinasas incluidas en el panel de "KinaseProfiler™ Upstate". Se mezclan tampón de quinasa (2,5 μl , 10x – que contiene MnCl_2 cuando se requiera), quinasa activa (0,001-0,01 Unidades; 2,5 μl), péptido específico o Poli(Glu4-Tyr) (5-500 μM o 0,01 mg/ml) en tampón quinasa y tampón quinasa (50 μM ; 5 μl) en un eppendorf en hielo. Se añade una mezcla de Mg/ATP (10 μl ; MgCl_2 67,5 (o 33,75) mM, ATP 450 (o 225) μM y [γ - ^{32}P]-ATP 1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$ (3000Ci/mmol)) y la reacción se incubaba a aproximadamente 30°C durante aproximadamente 10 minutos. La mezcla de reacción se distribuye en puntos (20 μl) en una cuadrícula de papel de 2 cm x 2 cm P81 (fosfocelulosa, para sustratos peptídicos cargados positivamente) o Whatman N° 1 (para sustrato de péptido Poli (Glu4-Tyr)). Las cuadrículas de ensayos se lavan 4 veces, durante 5 minutos cada una, con ácido fosfórico al 0,75% y se lavan una vez con acetona durante 5 minutos. Las cuadrículas de ensayo se transfieren a un vial de centelleo, se añaden 5 ml de cóctel de centelleo y se cuantifica la incorporación de ^{32}P (cpm) al sustrato peptídico con un contador de centelleo Beckman. El porcentaje de inhibición se calcula para cada reacción.

[0157] Los compuestos de Fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, muestran propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo, como se indica por los ensayos *in vitro* descritos en la presente solicitud. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula I preferiblemente muestran una CI_{50} en el intervalo de 1×10^{-10} a 1×10^{-5} M, preferiblemente menos de 500nM, 250nM, 100nM y 50nM para BCR-Abl no mutante y mutante.

[0158] Por ejemplo, N-[4-(4-Etil-piperacina-1-ilmetil)-3-trifluorometilfenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida (Ejemplo 4) tiene una Cl_{50} de <5 nM, <5 nM, <5 nM, <5 nM, <5 nM y <5 nM para Bcr-abl no mutante, G250E, E255V, T315I, F317L y M351T, respectivamente.

5 **[0159]** Por ejemplo, N-[4-(4-Etil-piperacina-1-ilmetil)-3-trifluorometilfenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida (Ejemplo 4) tiene una Cl_{50} de 36 nM, 15 nM, 3,8 nM y 100 nM para FGFR3, FLT-3, PDGFR- β y B-RAF, respectivamente.

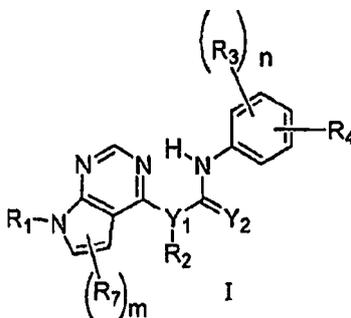
10 **[0160]** Los compuestos de la invención inhiben algunas de las quinasas enumeradas en el perfil de quinasas en más del 40%, preferentemente más del 50% y más preferentemente más del 60%. Por ejemplo, N-[4-(4-Etil-piperacina-1-ilmetil)-3-trifluorometilfenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida (Ejemplo 4) muestra el siguiente perfil de inhibición (la quinasa se muestra con el porcentaje de inhibición entre paréntesis): Abl(T315L) (98%); Abl(m) (98%); Bmx(h) (100%); BTK(h) (99%); c-RAF(h) (97%); CSK(h) (100%); cSRC(h) (99%); Fes(h) (97%); FGFR3(h) (98%); Flt3(h) (96%); IKK α (h) (98%); IKK β (h) (96%); JNK1 α 1(h) (81%); JNK2 α 2(h) (99%); Lck(h) (100%); Met(h) (70%); MKK4 (m) (87%); MKK6(h) (98%); p70S6K(h) (94%); PAK2(h) (62%); PDGFR α (h) (93%); PKA(h) (92%); PKC α (h) (61%); PKD2(h) (94%); ROCK-II(h) (78%); Ros(h) (62%); Rsk1(h) (95%); SAPK2 α (h) (92%); SAPK2 β (h) (85%); SAPK3(h) (92%); SAPK4(h) (82%); SGK(h) (81%); Syk(h) (63%); Tie2(h) (98%); y TrkB(h) (99%).

15

[0161] Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en la presente memoria son solamente para propósitos ilustrativos.

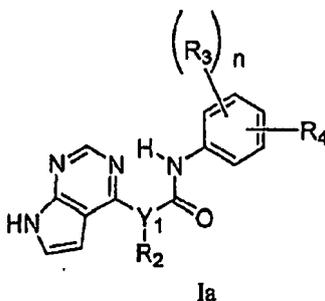
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre la Fórmula I:



en la que

- 5 n se selecciona entre 0, 1 y 2;
 m se selecciona entre 0, 1 y 2;
 Y₁ se selecciona entre N y CR₅; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
 Y₂ se selecciona entre O y S;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
- 10 R₂ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
 R₃ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido y alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido;
 R₄ se selecciona entre -NR₅C(O)R₆ y -C(O)NR₅R₆; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
- 15 donde R₆ se selecciona entre aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; donde cualquier arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre halo, hidroxilo, -NR₅R₅, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆-heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ halo-sustituido, heterociclo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heterociclo C₃₋₈-alcoxi C₀₋₄; donde cualquier sustituyente heteroarilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆ e hidroxilo-alquilo C₁₋₆;
- 20 R₇ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; y las sales hidratos, solvatos e isómeros farmacéuticamente aceptables del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1 de Fórmula Ia:



25 en la que:

- n se selecciona entre 0 y 1;
 Y₁ se selecciona entre N y CH;

Y₂ se selecciona entre O y S;

R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

R₂ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

5 R₃ se selecciona entre hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido y alcoxi C₁₋₆ halo-sustituido;

R₄ se selecciona entre NR₅C(O)R₆ y -C(O)NR₅R₆; donde R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆; y

10 donde R₆ se selecciona entre aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquil C₃₋₁₀-alquilo C₀₋₄; donde cualquier arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre halo, hidroxilo, -NR₅R₅, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆-heteroaril C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ halo-sustituido, heterociclo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heterociclo C₃₋₈-alcoxi C₀₋₄; donde cualquier sustituyente heteroarilo o heterocicloalquilo de R₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados independientemente entre alquilo C₁₋₆ e hidroxilo-alquilo C₁₋₆.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R₂ se selecciona entre hidrógeno y metilo; y R₃ se selecciona entre metilo y metoxi.

15 4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que R₄ se selecciona entre -NHC(O)R₆ y -C(O)NHR₆; donde R₆ se selecciona entre fenilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 radicales seleccionados entre trifluorometilo, dimetil-amino, imidazolilo, morfolino, morfolino-metilo, piperazinilo, piperazinil-metilo y pirrolidinil-metoxi; donde dicho imidazolilo, piperazinilo, piperazinil-metilo, está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre metilo, etilo y hidroxio-etilo.

20 5. El compuesto de la reivindicación 4 seleccionado entre: N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; 4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-N-(4-piperazin-1-ilmetil-3-trifluorometil-fenil)-benzamida; 3-(4-metil-imidazol-1-il)-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-5-trifluorometil-benzamida; N-[4-metil-3-(2-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il-acetilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida; N-(3-imidazol-1-il-5-trifluorometilfenil)-4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-trifluorometil-benzamida; 4-(2-metil-imidazol-1-il)-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-morfolin-4-il-3-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-morfolin-4-ilmetil-3-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-morfolin-4-il-5-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-il)-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-benzamida; 3-dimetilamino-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-5-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-trifluorometil-benzamida; 3-(4-etil-piperazin-1-il)-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-5-trifluorometil-benzamida; 4-metil-N-(3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometilfenil)-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-benzamida; 3-[4-(2-hidroxio-etil)-piperazin-1-il]-N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-5-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-piperazin-1-il-5-trifluorometil-benzamida; N-(4-metil-3-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-(pirrolidin-2-il-metoxi)-5-trifluorometil-benzamida; N-(3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-morfolin-4-il-5-trifluorometil-benzamida; N-(3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluorometil-benzamida; 4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-N-(3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-3-trifluorometil-benzamida; N-(3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida; y N-(3-metoxi-5-[3-metil-3-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-ureido]-fenil)-4-(2-metil-imidazol-1-il)-3-trifluorometil-benzamida.

45 6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

50 7. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad en un animal en el que la inhibición de la actividad quinasa puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de la enfermedad, en el que la quinasa se selecciona de Abl, Bcr-Abl, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, Flt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y TrkB.

55 8. Uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un animal en el que la actividad quinasa de Abl, Bcr-Abl, Bmx, BTK, b-RAF, c-RAF, CSK, cSRC, Fes, FGFR3, Flt3, IKK α , IKK β , JNK1 α 1, JNK2 α 2, Lck, Met, MKK4, MKK6, p70S6K, PAK2, PDGFR α , PKA, PKC α , PKD2, ROCK-II, Ros, Rsk1, SAPK2 α , SAPK2 β , SAPK3, SAPK4, SGK, Syk, Tie2 y TrkB contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

5 Documentos de patentes citados en la descripción

- WO 2005039486 A [0003]

Literatura diferente de patentes citadas en la descripción

- **Martinelli et al.** *HaematologicalThe Hematology Journal*, April 2005, 90-4 [0025]
- **Nature**, 01 July 2002, vol. 417, 949-954 [0044]
- **Campbell, S. L.** *Oncogene*, 1998, vol. 17, 1395 [0046]
- **Su et al.** *Nature*, 1997, vol. 386, 288-292 [0054]
- **Lin et al.** *J. Clin. Invest.*, 1997, vol. 100 (8), 2072-2078 [0056]
- **P. Lin.** *PNAS*, 1998, vol. 95, 8829-8834 [0056]
- *Oncogene*, 1996, vol. 13, 135-42 [0058]
- *Blood*, 1998, vol. 92, 2450-60 [0058]
- *Eur. J. Biochem*, November 2000, vol. 267 (21), 6321-30 [0062]
- *Exp Cell Res.*, 25 November 1999, vol. 253 (1), 100-9 [0062]
- *Mol Cell Endocrinol.*, 25 May 1999, vol. 151 (1-2), 65-77 [0062]
- *Immunol. Cell Biol.*, August 2000, vol. 78 (4), 447-51 [0062]
- *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 2000, vol. 65, 101-27 [0062]
- **T.W. Greene ; P. G. M. Wuts.** *Protective Groups in Organic Chemistry.* John Wiley and Sons, 1991 [0081]
- **Saulnier et al.** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1994, vol. 4, 1985 [0089]
- **T. W. Greene.** *Protecting Groups in Organic Chemistry.* John Wiley and Sons, Inc, 1999 [0090]
- **Jean Jacques ; Andre Collet ; Samuel H. Wilen.** *Enantiomers, Racemates and Resolutions.* John Wiley And Sons, Inc, 1981 [0092]