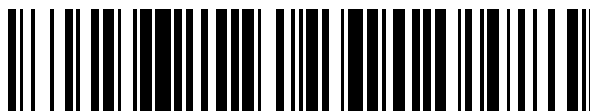


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 451**

51 Int. Cl.:
C07D 401/14 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06824870 .7**
96 Fecha de presentación: **30.08.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1926722**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.06.2008**

54 Título: **BENCIMIDAZOLES SUSTITUIDOS COMO INHIBIDORES DE QUINASA.**

30 Prioridad:
30.08.2005 US 712539 P
30.08.2005 US 713108 P
27.10.2005 US 731591 P
17.02.2006 US 774684 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2012

73 Titular/es:
NOVARTIS AG
LICHTSTRASSE 35
4056 BASEL, CH

72 Inventor/es:
AIKAWA, Mina E.;
AMIRI, Payman;
DOVE, Jeffrey H.;
LEVINE, Barry Haskell;
MCBRIDE, Christopher;
PICK, Teresa E.;
POON, Daniel J.;
RAMURTHY, Savithri;
RENHOWE, Paul A.;
SHAFER, Cynthia;
STUART, Darrin y
SUBRAMANIAN, Sharadha

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 374 451 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

Bencimidazoles sustituidos como inhibidores de quinasa

Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio bajo la regla 35 U.S.C. 119(e) para las solicitudes provisionales U.S. Serial No. 60/712.539 presentada el 30 de agosto de 2005, U.S. Serial No. 60/713.108 presentada el 30 de agosto de, 2005, U.S. Serial No. 60/731.591 presentada el 27 de octubre de 2005, y U.S. Serial No. 60/774-684 presentada el 17 de febrero de 2006.

Campo de la invención

10 La presente solicitud se relaciona con nuevos compuestos sustituidos de bencimidazol, sus tautómeros, estereoisómeros, polimorfos, y ésteres, con las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos, tautómeros, estereoisómeros, polimorfos, y ésteres, con composiciones de cualquiera de las modalidades anteriormente mencionadas junto con portadores farmacéuticamente aceptables, y con cualquiera de las modalidades anteriormente mencionadas, para uso ya sea solos o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, en la profilaxis o el tratamiento del cáncer.

15 Antecedentes de la invención

Las quinastas que se sabe que están asociadas con tumorigenesis incluyen a las serina/treonina quinastas Raf y a las tirosina quinastas receptoras (RTK).

20 Las serina/treonina quinastas Raf son componentes esenciales del modulo de señalización de la Proteína Quinasa Activada por Ras/Mitógeno (MAPK) que controla un programa transcripcional complejo en respuesta a estímulos celulares externos. Los genes Raf codifican para proteína quinastas específicas para serina treonina altamente conservada que se sabe que se enlazan con el oncogén ras. Ellos hacen parte de una ruta de transducción de señal que se cree que consiste de tirosina quinastas receptoras, p21 ras, proteína quinastas Raf, Mek1 (activador de ERK o MAPKK) quinastas y ERK (MAPK) quinastas, que en última instancia fosforilan factores de transcripción. En esta ruta las quinastas Raf son activadas por Ras y fosforilan y activan dos isoformas de Proteína Quinasa Quinasa Activada por Mitógeno (llamadas Mek1 y Mek2), que son treonina/tirosina quinastas de especificidad doble. Ambas isoformas de Mek activan a las Quinastas 1 y 2 Activadas por Mitógeno (MAPK, también llamada Quinasa 1 y 2 Regulada por el Ligando Extracelular o Erk1 y Erk2). Las MAPK fosforilan muchos sustratos incluidos factores de transcripción y al hacerlo crean su programa transcripcional. La participación de la quinasa Raf en la ruta de Ras/MAPK influye y regula muchas funciones celulares tales como proliferación, diferenciación, supervivencia, transformación oncogénica y apoptosis.

25

30

35 Tanto el papel esencial como la posición de Raf en muchas rutas de señalización han sido demostrados a partir de estudios utilizando mutantes inhibidores de Raf desregulados y dominantes en células de mamífero así como a partir de estudios que emplean técnicas genéticas y bioquímicas de organismos modelo. En muchos casos, la activación de Raf por receptores que estimulan la fosforilación de tirosina celular depende de la actividad de Ras, lo que indica que Ras actúa secuencia arriba de Raf. Después de la activación, Raf-1 fosforila y activa entonces a Mek1, dando como resultado la propagación de la señal hasta efectores secuencia abajo, tales como MAPK (proteína quinasa activada por mitógeno; Crews et al., 1993, Cell 74: 215). Las serina/treonina quinastas de Raf se considera que son los efectores primarios de Ras involucrados en la proliferación de células animales (Avruch et al., 1994, Trends Biochem. Sci. 19: 279).

40 La quinasa Raf tiene tres isoformas distintas, Raf-1 (c-Raf), A-Raf, y B-Raf, que se distinguen por su habilidad para interactuar con Ras, para activar la ruta de la quinasa MAPK, distribución de tejido y localización subcelular (Marias et al., Biochem. J. 351: 289 - 305, 2000; Weber et al., Oncogene 19: 169 - 176, 2000; Pritchard et al., Mol. Cell. Biol. 15: 6430 - 6442, 1995). La activación de la mutación de uno de los genes Ras puede ser observada en aproximadamente 20% de todos los tumores y la ruta Ras/Raf/MEK/ERK se activa en aproximadamente 30% de todos los tumores (Bos et al., Cancer Res. 49: 4682 - 4689, 1989; Hoshino et al., Oncogene 18: 813 - 822, 1999). Estudios recientes han mostrado que la mutación B-Raf en los nevus de la piel es una etapa crítica en la iniciación de neoplasia melanocítica (Pollock et al., Nature Genetics 25: 1 - 2, 2002). Además, estudios más recientes han divulgado que la activación de la mutación en el dominio de la quinasa de B-Raf se presenta en aproximadamente 66% de los melanomas, 12% del carcinoma de colon y 14% del cáncer de hígado (Davies et al., Nature 417: 949 - 954, 2002; Yuen et al., Cancer Research 62: 6451 - 6455, 2002; Brose et al., Cancer Research 62: 6997 - 7000, 2002).

45

50

- 5 El melanoma, que sigue representando una importante necesidad médica no cubierta, es una enfermedad multigénica compleja con un pronóstico pobre, especialmente en el estado metastático avanzado. Se ha descubierto recientemente que la activación de mutaciones somáticas en el protooncogén B-Raf en una variedad de tumores malignos, y más frecuentemente en melanoma. Aproximadamente 70% del melanoma expresa una forma activada y mutada de B-Raf (V600E), convirtiéndolo en un excelente objetivo para el desarrollo de fármacos. Además, otro 10 - 15% de los melanomas expresan N-Ras mutante, demostrando además la importancia de la ruta MAPK en el crecimiento y supervivencia de células de melanoma.
- 10 Los inhibidores de la ruta Ras/Raf/MEK/ERK a nivel de quinasas Raf pueden ser potencialmente efectivos como agentes terapéuticos contra tumores con tirosina quinasas receptoras sobreexpresadas o mutadas, tirosina quinasas intracelulares activadas, tumores con Grb2 expresada en forma aberrante (una proteína adaptadora que permite la estimulación de Ras por medio del factor de intercambio Sos) así como tumores que albergan mutaciones activadoras de la misma Raf. En los primeros ensayos clínicos los inhibidores de quinasa Raf que también inhiben B-Raf han mostrado ser promisorios como agentes terapéuticos en terapia contra el cáncer (Crump, Current Pharmaceutical Design 8: 2243 - 2248, 2002; Sebastien et al., Current Pharmaceutical Design 8: 2249 - 2253, 2002).
- 15 La interrupción de la expresión de Raf en líneas de células a través de la aplicación de tecnología de ARN antisentido ha mostrado que suprime tanto la tumorigenicidad mediada por Ras como por Raf (Kolch et al., Nature 349: 416 - 428, 1991; Monia et al., Nature Medicine 2(6): 668 - 675, 1996). También se ha demostrado que la administración de anticuerpos de desactivación contra quinasa Raf o la coexpresión de quinasa Raf dominante negativa o MEK dominante negativa, el sustrato de quinasa Raf, conduce a la reversión de células transformadas al fenotipo de crecimiento normal (ver Daum et al., Trends Biochem. Sci 1994, 19: 474 - 80; Fridman et al. J. Biol. Chem. 1994, 269: 30105 - 8).
- 20 Se han descrito diferentes inhibidores de la quinasa Raf que exhiben eficacia en la inhibición de la proliferación de células tumorales en ensayos *in vitro* y/o *in vivo* (ver, por ejemplo, patentes de los Estados Unidos Nos. 6.391.636, 6.358.932, 6.037.136, 5.717.100, 6.458.813, 6.204.467, y 6.268.391). Otras patentes y solicitudes de patente sugieren el uso de inhibidores de la quinasa Raf para el tratamiento de la leucemia (ver, por ejemplo, patentes de los Estados Unidos Nos. 6.268.391, y 6.204.467, y las solicitudes de patente de los Estados Unidos Nos. 20020137774; 20020082192; 20010016194; y 20010006975), o para el tratamiento de cáncer de mamá (ver, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos Nos. 6.358.932, 5.717.100, 6.458.813, 6.268.391, y 6.204.467, y la solicitud publicada de patente de los Estados Unidos No. 20010014679).
- 30 La angiogénesis también juega un papel importante en el crecimiento de las células cancerosas. Se sabe que una vez que un nido de células cancerosas alcanza un cierto tamaño, aproximadamente de 1 a 2 μ M de diámetro, las células cancerosas deben desarrollar un suministro de sangre con el propósito de pueda crecer más el tumor ya que la difusión no será suficiente para suministrar suficiente oxígeno y nutrientes a las células cancerosas. De este modo, se espera que la inhibición de la angiogénesis inhiba el crecimiento de células cancerosas.
- 35 Las tirosina quinasas receptoras (RTK) son polipéptidos transmembrana que regulan el crecimiento y diferenciación de las células en desarrollo, la remodelación y regeneración de tejidos adultos (Mustonen, T. et al., J. Cell Biology 129: 895 - 898, 1995; van der Geer, P. et al., Ann Rev. Cell Biol. 10: 251 - 337, 1994). Los ligandos de polipéptidos, conocidos como factores de crecimiento o citoquinas, se sabe que activan a las RTK. Las RTK de señalización involucran enlazamiento de ligandos y un cambio en la conformación en el dominio externo del receptor resultante en su dimerización (Lymboussaki, A. "Vascular. Endothelial Growth Factors and their Receptors in Embryos, Adults, and in Tumors" Academic Dissertation, University of Helsinki, Molecular/Cancer Biology Laboratory and Department of Pathology, Haartman Institute, 1999; Ullrich, A. et al., Cell 61: 203 - 212, 1990). El enlazamiento del ligando a la RTK da como resultado la transfosforilación del receptor en residuos específicos de tirosina y la posterior activación de los dominios catalíticos para la fosforilación de sustratos citoplasmáticos (*Id*).
- 40 Las tirosina quinasas receptoras (RTK) son polipéptidos transmembrana que regulan el crecimiento y diferenciación de las células en desarrollo, la remodelación y regeneración de tejidos adultos (Mustonen, T. et al., J. Cell Biology 129: 895 - 898, 1995; van der Geer, P. et al., Ann Rev. Cell Biol. 10: 251 - 337, 1994). Los ligandos de polipéptidos, conocidos como factores de crecimiento o citoquinas, se sabe que activan a las RTK. Las RTK de señalización involucran enlazamiento de ligandos y un cambio en la conformación en el dominio externo del receptor resultante en su dimerización (Lymboussaki, A. "Vascular. Endothelial Growth Factors and their Receptors in Embryos, Adults, and in Tumors" Academic Dissertation, University of Helsinki, Molecular/Cancer Biology Laboratory and Department of Pathology, Haartman Institute, 1999; Ullrich, A. et al., Cell 61: 203 - 212, 1990). El enlazamiento del ligando a la RTK da como resultado la transfosforilación del receptor en residuos específicos de tirosina y la posterior activación de los dominios catalíticos para la fosforilación de sustratos citoplasmáticos (*Id*).
- 45 Dos subfamilias de las RTK son específicas para el endotelio vascular. Estas incluyen a la subfamilia del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y a la subfamilia del receptor Tie. Las RTK de clase V incluyen VEGFR1 (FLT-1), VEGFR2 (KDR (humana), Flk-1 (de ratón)), y VEGFR3 (FLT-4) (Shibuya, M. et al., Oncogene 5: 519 - 525, 1990; Terman, B. et al., Oncogene 6: 1677 - 1683, 1991; Aprelikova, O. et al., Cancer Res. 52: 746 - 748, 1992). Se ha descrito que los miembros de la subfamilia VEGFson capaces de inducir permeabilidad vascular y proliferación de células endoteliales y adicionalmente se las ha identificado como un inductor principal de angiogénesis y vasculogénesis (Ferrara, N. et al., Endocrinol. Rev. 18: 4 - 25, 1997).
- 50 Se sabe que VEGF se enlaza específicamente con las RTK incluidas FLT-1 y Flk-1 (DeVries, C. et al., Science 255: 989 - 991, 1992; Quinn, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 7533 - 7537, 1993). VEGF estimula la migración y proliferación de células endoteliales e induce angiogénesis tanto *in vitro* como *in vivo* (Connolly, D. et al., J. Biol. Chem. 264: 20017 - 20024, 1989; Connolly, D. et al., J. Clin. Invest. 84: 1470 - 1478, 1989; Ferrara, N. et al., Endocrinol. Rev. 18: 4 - 25, 1997; Leung, D. et al., Science 246: 1306 - 1309, 1989; Plouet, J. et al., EMBO J 8: 3801 - 3806, 1989).
- 55 Se sabe que VEGF se enlaza específicamente con las RTK incluidas FLT-1 y Flk-1 (DeVries, C. et al., Science 255: 989 - 991, 1992; Quinn, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 7533 - 7537, 1993). VEGF estimula la migración y proliferación de células endoteliales e induce angiogénesis tanto *in vitro* como *in vivo* (Connolly, D. et al., J. Biol. Chem. 264: 20017 - 20024, 1989; Connolly, D. et al., J. Clin. Invest. 84: 1470 - 1478, 1989; Ferrara, N. et al., Endocrinol. Rev. 18: 4 - 25, 1997; Leung, D. et al., Science 246: 1306 - 1309, 1989; Plouet, J. et al., EMBO J 8: 3801 - 3806, 1989).

Los estudios en diferentes sistemas de células endoteliales cultivadas han establecido que VEGFR2 media la mayoría de los efectos secuencia debajo de VEGF en angiogénesis (Wey S. et al., *Clinical Advances in Hematology and Oncology*, 2: 37 - 45, 2004). Se cree que la proliferación mediada por VEGFR2 de células endoteliales involucra la activación de la ruta Ras/Raf/Mek/Erk (Veikkola T. et al., *Cancer Res* 60: 203 - 212, 2000). La expresión de VEGFR2 ha sido observada en melanoma, cáncer de mama, cáncer de vesícula, cáncer de pulmón, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, y cáncer de ovario (ver Wey et al., más arriba). La neutralización de anticuerpos monoclonales con VEGFR2 (KDR) ha demostrado ser eficaz en el bloqueo de angiogénesis tumoral (ver Kim et al., *Nature* 362: 841, 1993; Rockwell et al., *Mol. Cell Differ.* 3: 315, 1995). Ya que se sabe que la angiogénesis es crítica para el crecimiento de cáncer y para ser controlada por VEGF y VEGF-RTK, se han realizado esfuerzos sustanciales para desarrollar que inhiban o retarden la angiogénesis y que inhiban VEGF-RTK.

La quinasa receptora del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR) es otro tipo de RTK. Se ha demostrado la expresión de PDGF en una cantidad de tumores sólidos diferentes, desde glioblastomas y osteosarcoma hasta carcinomas de próstata. En estos diferentes tipos de tumor, el papel biológico de la señalización de PDGF puede variar desde estimulación autocrina del crecimiento de células cancerosas hasta interacciones paracrinas más sutiles que involucran estroma adyacente y angiogénesis. PDGF interactúa con receptores de tirosina quinasas PDGFR α y PDGFR β . Por lo tanto, se espera que la inhibición de la actividad de la PDGFR quinasa con pequeñas moléculas interfiera con el crecimiento tumoral y angiogénesis.

Las quinasas receptoras del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) representan otro tipo de las RTK. Los factores de crecimiento de fibroblastos son una familia de factores de crecimiento polipeptídico involucrados en una variedad de actividades, incluidas mitogénesis, angiogénesis, y cicatrización de heridas. Ellos comprenden una familia de receptores de tirosina quinasa relacionados pero individualmente distintos que contienen un dominio extracelular ya sea con 2 o con 3 dominios como el de la inmunoglobulina (Ig), un dominio transmembrana, y un dominio de tirosina quinasa citoplasmática. Los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos que han sido identificados incluyen FGFR1 (Ruta, M et al, *Oncogene* 3: 9 - 15, 1988); FGFR2 (Dionne, C et al., *Cytogenet. Cell Genet.* 60: 34 - 36, 1992); FGFR3 (Keegan, K et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88: 1095 - 1099, 1991); y FGFR4 (Partanen, J et al., *EMBO J.* 10: 1347 - 1354, 1991).

El papel de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos, particularmente FGFR3, en cáncer ha sido descubierto. La desregulación de oncogenes por translocación hasta el sitio de la cadena pesada de inmunoglobulina (IgH) sobre 14q32 es un evento seminal en la patogénesis de tumores de células B. En mielomas múltiples, las translocaciones hasta el sitio de IgH se presentan en 20 a 60% de los casos. Para la mayoría de las translocaciones, se desconoce el cromosoma compañero; para las otras, se han identificado una amplia gama de compañeros cromosómicos, con 11q13, el único cromosoma que está frecuentemente involucrado. Bergsagel et al. identificaron fragmentos ilegítimos de interrupción de la recombinación (definidos como secuencias que contienen desde únicamente 1 región de interrupción) como marcadores potenciales de eventos de translocación en regiones de interrupción de IgH en 15 de 21 líneas de células de mieloma, incluidas 7 de 8 líneas de cariotipo que tenían una translocación no detectable 14q32. Estos puntos de corte de translocación involucraron 6 loci cromosómicos: 4p16.3; 6; 8q24.13; 11q13.3; 16q23.1; y 21q22.1 (Bergsagel et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.* 93: 13931 - 13936, 1996). Chesi et al. (*Nature Genet.* 16: 260 - 264 1997) encontraron la translocación cariotípicamente silenciosa t(4;14)(p16.3;q32.3) en 5 líneas de células de mieloma y en al menos 3 de 10 tumores primarios asociados con mielomas múltiples para exhibir una mayor expresión y activación de mutaciones de FGFR3. Los puntos de corte del cromosoma 4 se agruparon en una región de 70 kb centromérica a FGFR3, que se pensaba que era del oncogén desregulado. Dos líneas y 1 tumor primario con esta translocación expresaron selectivamente un alelo FGFR3 que contenía mutaciones de activación identificadas previamente en enanismo tanatóforico: tyr373 para cys, lys650 para glu, y lys650 para met. Para K650E, la activación constitutiva de FGFR3 en ausencia de ligando había sido probada por medio de experimentos de transfección. Chesi et al. (1997) propusieron que después de la translocación de t(4;14), la mutación somática durante el progreso del tumor genera frecuentemente una proteína FGFR3 que es activa en ausencia de ligando.

Rasmussen, T et al. citan una frecuencia de 3 a 24% para la translocación t(4;14) en mieloma múltiple (Rasmussen, T et al., *Br. J. Haematol.* 117: 626 - 628, 2002). La translocación fue observada con una frecuencia significativamente baja en pacientes con gammapatía monoclonal de significado indeterminado (MGUS), lo que sugiere un papel en la transición de MGUS a mieloma múltiple. La translocación de t(4;14) afecta 2 oncogenes potenciales: FGFR3 y un dominio de conjunto de mieloma múltiple (μ MSET). Rasmussen et al. (2002) investigaron la frecuencia de la desregulación de FGFR3 y su valor para pronosticar en mieloma múltiple. En 16 de 110 (14,5%) muestras de médula ósea de mieloma múltiple, ellos encontraron expresión desregulada de FGFR3.

Además, se ha presentado evidencia adicional que indica un papel oncogénico para FGFR3 en carcinomas (Cappellen, D. et al., (*Letter*) *Nature Genet.* 23: 18 - 20, 1999). Cappellen et al. encontraron expresión de un FGFR3 activado constitutivamente en una gran proporción de 2 cánceres epiteliales comunes, vejiga y cuello uterino. FGFR3 parece ser el oncogén más frecuentemente mutado en cáncer de vejiga, estando mutado en más del 30% de los casos. FGFR3 parece mediar señales opuestas, que actúan como un regulador negativo del crecimiento en

hueso y como un oncogén en diferentes tipos de tumores. Todas las mutaciones somáticas de sentido erróneo FGFR3 identificadas en estos cánceres fueron idénticas a las mutaciones de activación germinal que causan displasia tanatofórica (los autores observaron que en 2 mutaciones, esta equivalencia se presentó debido a la isoforma FGFR3b expresada en células epiteliales que contiene 2 aminoácidos más que la isoforma FGFR3c expresada en hueso). De las alteraciones de FGFR3 en tumores epiteliales, la mutación S249C era la más común, afectando 5 de 9 cánceres de vejiga y 3 de 3 cánceres cervicales.

Se ha presentado también evidencia que indica que FGFR3 activada está dirigida a degradación lisosomal por medio de ubiquitinación mediada por c-Cbl, y que las mutaciones de activación encontradas en pacientes con acondroplasia y condrodisplasias relacionadas alteran este proceso, conduciendo a reciclaje de receptores activados y amplificación de señales de FGFR3 (Cho et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 101: 609 - 614, 2004). Cho et al. sugirieron que este mecanismo contribuye a la patogénesis molecular de acondroplasia y representa un objetivo potencial para intervención terapéutica. El defecto lisosomal objetivo se une a otros mecanismos propuestos para explicar la patogénesis de acondroplasia.

Otros resultados indican que FGFR2 y FGFR3 son factores significativos en tumorigenesis (Jang J. H. et al., "Mutations in fibroblast growth factor receptor 2 and fibroblast growth factor receptor 3 genes associated with human gastric and colorectal cancers" Cancer Res. 61(9): 354 1 - 3, 2001). Debido a su papel en mieloma múltiple, cáncer de vejiga, y tumorigenesis, el desarrollo de inhibidores de quinasas receptoras del factor de crecimiento de fibroblastos, particularmente de inhibidores de FGFR2 y FGFR3, jugará un papel importante en el tratamiento de cánceres.

C-Kit es otra tirosina quinasa receptora perteneciente a la familia del receptor PDGF y es normalmente expresada en un progenitor hematopoyético, células germinales y mastocitos. La expresión de c-kit ha sido implicada en una cantidad de cánceres incluida la leucemia de mastocitos, tumores de células germinales, carcinoma de pulmón de células pequeñas, tumores estromales gastrointestinales, leucemia mielógena aguda (AML), eritroleucemia, neuroblastoma, melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma de mama (Heinrich, M. C. et al; J. Clin. Onc. 20, 6 1692 - 1703, 2002 (artículo de revisión); Smolich, B. D. et al., Blood, 97, 5; 1413 - 1421).

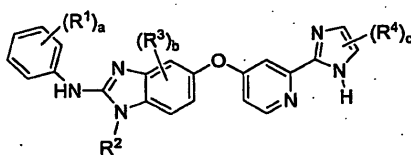
La sobreexpresión de CSF-1R, el receptor para el factor 1 de estimulación de colonias (CSF-1) ha sido implicado en una cantidad de carcinomas humanos, incluidos carcinomas de mama, ovario, endometrio, pulmón, riñón, páncreas y próstata (Sapi, E., Exp. Biol. Med 229: 1 - 11, 2004). CSF-1R es receptor de tirosina quinasa que, cuando es activado por su ligando CSF-1, activa rutas de transducción de señal que controlan la proliferación y diferenciación celular. CSF-1R se expresa en la glándula mamaria durante el embarazo y la lactancia. La expresión anormal de CSF-1R ha sido correlacionada con 58% de todos los cánceres de mama, y con 85% del carcinoma invasivo de mama (ver Sapi, más arriba).

US 2004/0122237 A1 divulga compuestos sustituidos de benzazol, composiciones y métodos de inhibición de la actividad de la quinasa Raf en un individuo humano o animal.

Existe una necesidad permanente por compuestos que inhiban la proliferación de capilares, que inhiban el crecimiento de tumores, que traten el cáncer, que modulen la detención del ciclo celular, y/o inhiban moléculas tales como una o más entre Ras, Raf, B-Raf mutante, VEGFR2 (KDR, Flk-1), FGFR2/3, c-Kit, PDGFR β , CSF-1R, y formulaciones farmacéuticas y medicamentos que contengan tales compuestos. También existe la necesidad por métodos para la administración de tales compuestos, formulaciones farmacéuticas, y medicamentos para pacientes o individuos que requieran de los mismos.

Resumen de la invención

Se proveen nuevos compuestos sustituidos de bencimidazol de la fórmula (I):



(I)

en donde,

cada R¹ se selecciona independientemente de entre hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)sulfanilo, (alquil C₁₋₆)sulfonilo,

cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

R² es alquilo C₁₋₆ o halo(alquilo C₁₋₆);

cada R³ se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, y alcoxi C₁₋₆;

5 cada R⁴ se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, heterocicloalquilcarbonilo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo C₁₋₆, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R¹, R², R³, y R⁴ pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, halo(alquilo C₁₋₆), alcoxi C₁₋₆, y halo(alcoxi C₁₋₆);

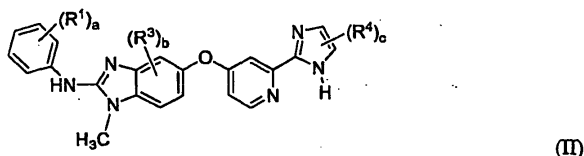
a es 1, 2, 3, 4, o 5;

10 b es 0, 1, 2, o 3; y

c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, éster.

En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de la fórmula (II):



15

en donde,

cada R¹ se selecciona independientemente de entre alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, halo, (alquil C₁₋₆)sulfanilo, (alquil C₁₋₆)sulfonilo,

cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

20 cada R³ se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, y alcoxi C₁₋₆;

cada R⁴ se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

25 en donde R¹, R², R³, y R⁴ pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre

hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, y alcoxi C₁₋₆;

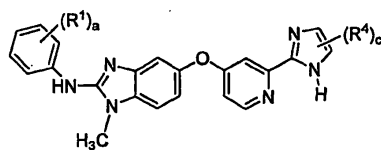
a es 1, 2, 3, 4, o 5;

b es 0, 1, 2, o 3; y

c es 1 o 2;

30 o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de la fórmula (III):



(III)

en donde,

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo,

5 cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

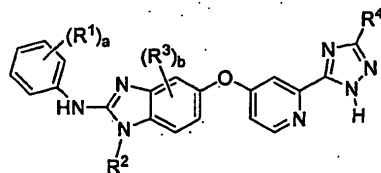
10 en donde R^1 y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

a es 1, 2, 3, 4, o 5; y

c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, éster.

15 También se divulgan compuestos de la fórmula siguiente (IV):



(IV)

en donde,

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo,

20 cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

R^2 es alquilo C_{1-6} o halo(alquilo C_{1-6});

cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo C_{1-6} , carbonitrilo,

25 carbonitril(alquilo C_{1-6}), cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquil(alquilo C_{1-6}), heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

a es 1, 2, 3, 4, o 5; y

30 b es 0, 1, 2, o 3;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

5 En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de fórmulas (I) - (IV), en donde cada R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de hidroxilo, cloro, flúor, bromo, metilo, etilo, propilo, butilo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, trifluorometilo, trifluoroetilo, trifluorometoxi, trifluoroetoxi, trifluorometil sulfanilo, piperidinilo, alquilpiperidinilo C₁₋₆, piperazinilo, alquilpiperazinilo C₁₋₆, tetrahidrofuranilo, piridinilo, y pirimidinilo. En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (IV), en donde a es 1 o 2, y al menos un R¹ es halo(alquilo C₁₋₆), tal como trifluorometilo. En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) y (IV), en donde R² es alquilo C₁₋₆, tal como, por ejemplo, metilo o etilo. En modalidades adicionales, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I), (II), y (IV), en donde b es 0, y por lo tanto R³ no está presente. En modalidades alternativas, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (IV), en donde b es 1, y R³ es alcoxi C₁₋₆, tal como, por ejemplo, metoxi. En aún otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (III), en donde c es 1 o 2, y al menos un R⁴ es halo (alquilo C₁₋₆), tal como, por ejemplo, trifluorometilo.

10 En otros aspectos, la presente invención provee cualquiera de las modalidades de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método para tratar trastornos relacionados con Raf en un individuo humano o animal que requiera de tal tratamiento que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad del compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo efectiva para reducir o prevenir el crecimiento del tumor en un individuo.

20 En aún otros aspectos, la presente invención provee cualquiera de las modalidades de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método para el tratamiento de trastornos relacionados con Raf en un individuo humano o animal que requiera de tal tratamiento que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad del compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo efectiva para reducir o prevenir el crecimiento del tumor en el individuo en combinación con al menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer.

25 En aún otros aspectos, la presente invención provee composiciones terapéuticas que comprenden al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) en combinación con uno o más agentes adicionales para el tratamiento del cáncer, como comúnmente se los emplea en terapia contra el cáncer.

30 Los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de cánceres, incluidos carcinomas (por ejemplo, de los pulmones, páncreas, ovarios, tiroides, vejiga o colon), melanoma, trastornos mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide, mieloma múltiple, y eritroleucemia), adenomas (por ejemplo, adenoma vellosos del colon), y sarcomas (por ejemplo, osteosarcoma).

35 En otro aspecto, la presente invención se relaciona con al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) efectiva para inhibir la ruta de señalización de MAPK en un individuo para uso en un método para inhibir al menos una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en el individuo, o el tratamiento de una condición biológica mediada por una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en el individuo, que comprende la administración de una composición terapéutica que comprende al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las composiciones terapéuticas son útiles para el tratamiento de pacientes que requieran de tales inhibidores (por ejemplo, aquellos que sufren de cáncer mediado por señalización anormal de MAPK). En una modalidad, el método para inhibir a la quinasa Raf en un individuo comprende la administración de una composición terapéutica que comprende {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il}-(4-trifluorometil-fenil)-amina, y el tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

40 En otro aspecto, la presente invención se relaciona con al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) efectiva para inhibir al receptor de tirosina quinasa en un individuo para uso en un método para inhibir al menos un receptor de tirosina quinasa seleccionado del grupo que consiste de entre VEGFR-2, PDGFR-β, pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit, y CSF-1R en el individuo, o el tratamiento de una condición biológica mediada por al menos uno de entre VEGFR-2, PDGFR-β, pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit, y CSF-1R que comprende la administración de una composición terapéutica que comprende al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 Los compuestos terapéuticos son útiles para el tratamiento de pacientes que requieran de tales inhibidores (por ejemplo, aquellos que sufren de cáncer mediado por señalización del receptor anormal de tirosina quinasa). En una modalidad, el método para inhibir una tirosina quinasa seleccionada del grupo que consiste de VEGFR-2, PDGFR-β,

pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit, y CSF-1R en un individuo comprende la administración una composición terapéutica que comprende {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenilo)-amina o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

5 Otros aspectos de la invención, por ejemplo composiciones, se describen en la descripción detallada de la invención.

Breve descripción de los dibujos

Los aspectos precedentes y muchas de las ventajas asociadas de esta invención se entenderán mejor con referencia a la siguiente descripción detallada, cuando se toman en conjunto con los dibujos acompañantes, en donde:

10 La FIGURA 1 es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de melanoma humano A375M en ratones cuando son tratados con un compuesto de la invención, como se describe en el Ejemplo 78;

15 Las FIGURAS 2A y 2B son portaobjetos de PAGE que muestran la inhibición de la señalización secuencia debajo de quinasa Raf en células tumorales de melanoma humano A375M en ratones 4 (Fig. 2A) y 24 horas (Fig. 2B) después de tratamiento con un compuesto de la invención, como se describe en el Ejemplo 79;

La FIGURA 3 es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores cancerosos de colon humano HT29P en ratones cuando se los trata con un compuesto de la invención, como se describe en el Ejemplo 80;

20 Las FIGURAS 4A, 4B, y 4C son diapositivas PAGE que muestran la inhibición de la señalización secuencia debajo de quinasa Raf en células tumorales de cáncer de colon humano HT29P en ratones 1 hora (Fig. 4A), 4 horas (Fig. 4B), y 24 horas (Fig. 4C) después de tratamiento con un compuesto de la invención, como se describe en el Ejemplo 81;

25 La FIGURA 5 ilustra la ruta de señalización de MAPK que incluye Ras, Raf, MEK, y ERK y el punto propuesto de inhibición de la señalización secuencia debajo de la quinasa Raf con el compuesto del Ejemplo 1 como se describe en los Ejemplos 82 - 86;

Las FIGURAS 6A, 6B, y 6C son diapositivas PAGE que muestran la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células A375M (FIG 6A), en células SK-MEL2 (FIG 6B), y en células CHL-1 (FIG 6C) después de 4 horas de incubación en cultivo con un rango de concentraciones del compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 83;

30 La FIGURA 7A es un gráfico que muestra una respuesta a la dosis en la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de melanoma humano A375M (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con una dosis oral de 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 84;

35 La FIGURA 7B es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales A375M en ratones 8 horas después del 14avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 84;

La FIGURA 7C es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales A375M en ratones 24 horas después del 14avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 84;

40 La FIGURA 7D es una diapositiva PAGE que muestra la modulación de marcadores secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales A375M 24 horas del 14avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 84;

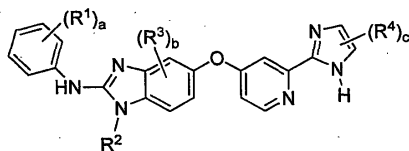
La FIGURA 8A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores cancerosos de melanoma MEXF276 (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;

45 La FIGURA 8B es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales MEXF276 en ratones 4 horas después del 20avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;

- La FIGURA 8C es una diapositiva PAGE que muestra la modulación de marcadores secuencia debajo de la quinasa Raf en células tumorales MEXF276 4 horas después del 20avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;
- 5 La FIGURA 9A es un gráfico que muestra la inhibición promedio del crecimiento del tumor de tumores cancerosos de melanoma MEXF1341 (N-Ras Q61K) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;
- La FIGURA 9B es una diapositiva PAGE que muestra la señalización secuencia debajo de la quinasa Raf en células tumorales MEXF1341 en ratones 4 horas después del 20avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;
- 10 La FIGURA 9C es una diapositiva PAGE que muestra la modulación de marcadores secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales MEXF1341 4 horas después del 20avo tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 85;
- La FIGURA 10A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de carcinoma colorectal HCT-116 (K-Ras G13D) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- 15 La FIGURA 10B es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales HCT-116 en ratones 4 horas después del tercer tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- La FIGURA 10C es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales HCT-116 en ratones 8 horas después del 3er tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- 20 La FIGURA 10D es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales HCT-116 en ratones 24 horas después del 3er tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- 25 La FIGURA 11 es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de carcinoma colorectal HT-29 (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- La FIGURA 12A es un gráfico que muestra la inhibición promedio del crecimiento tumoral de tumores cancerosos de leucemia monocítica aguda MV4-11 (FLT3 ITD) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- 30 La FIGURA 12B es una diapositiva PAGE que muestra la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales MV4-11 en ratones 4 horas después del 3er tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 86;
- La FIGURA 13 es un gráfico que muestra la inhibición de la angiogénesis mediada por VEGF en un modelo Matrigel CHO-VEGF después de tratamiento con 10 mg/kg, 30 mg/kg, y 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1, como se describe en el Ejemplo 88;
- 35 La FIGURA 14A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de melanoma A375M en ratones cuando se los trata con 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 con un régimen de dosificación q2d, q3d, o q4d como se describe en el Ejemplo 89;
- 40 La FIGURA 14B es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales A375M en ratones 8 horas, 24 horas, y 48 horas después del 5to tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 en el régimen de dosificación q2d, como se describe en el Ejemplo 89;
- La FIGURA 14C es una diapositiva PAGE que muestra la inhibición de la señalización secuencia abajo de la quinasa Raf en células tumorales A375M en ratones 48 horas, 72 horas, y 96 horas después del 3er tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 en el régimen de dosificación q4d, como se describe en el Ejemplo 89; y
- 45 La FIGURA 15 es un gráfico que muestra la relación entre el tratamiento con células tumorales A375M con diferentes concentraciones del compuesto del Ejemplo 1, la concentración en suero del compuesto con el tiempo, y el umbral de concentración para la modulación objetivo, como se describe en el Ejemplo 90.

Descripción detallada de la modalidad preferida

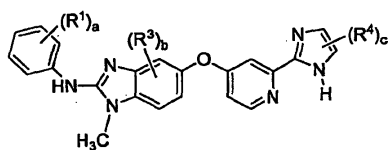
De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proveen compuestos sustituidos de bencimidazol, de la fórmula (I):



(I)

- 5 en donde,
- cada R^1 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;
- R^2 es alquilo C_{1-6} o halo(alquilo C_{1-6});
- 10 cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;
- cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo C_{1-6} , carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;
- 15 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , halo(alquilo C_{1-6}), alcoxi C_{1-6} , y halo(alcoxi C_{1-6});
- a es 1, 2, 3, 4, o 5;
- b es 0, 1, 2, o 3; y
- c es 1 o 2;
- 20 o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de la fórmula (II):



(II)

- en donde,
- 25 cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;
- cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;
- 30 cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

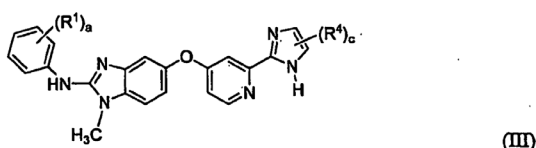
a es 1, 2, 3, 4, o 5;

b es 0, 1, 2, o 3; y

5 c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de la fórmula (III):



10 en donde,

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

15 cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

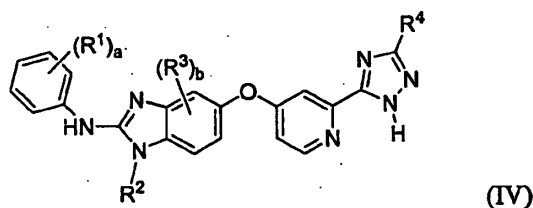
en donde R^1 y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

a es 1, 2, 3, o 5; y

c es 1 o 2;

20 o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

También se divulgan compuestos de la siguiente fórmula (IV):



en donde,

25 cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo,

cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

R^2 es alquilo C_{1-6} o halo(alquilo C_{1-6});

cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

cada R⁴ se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo C₁₋₆, carbonitrilo, carbonitril(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquil(alquilo C₁₋₆), heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

5 en donde R¹, R², R³, y R⁴ pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, y alcoxi C₁₋₆;

a es 1, 2, 3, 4, o 5; y

b es 0, 1, 2, o 3;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

10 En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (TV), en donde cada R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de hidroxilo, cloro, flúor, bromo, metilo, etilo, propilo, butilo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, trifluorometilo, trifluoroetilo, trifluorometoxi, trifluoroetoxi, trifluorometilsulfanilo, piperidinilo, alquilpiperidinilo C₁₋₆, piperazinilo, alquilpiperazinilo C₁₋₆, tetrahidrofuranilo, piridinilo, y pirimidinilo. En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (IV), en donde a es 1 o 2, y al menos un R¹ es halo(alquilo C₁₋₆), tal como trifluorometilo. En otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) y (IV), en donde R² es alquilo C₁₋₆, tal como, por ejemplo, metilo o etilo. En modalidades adicionales, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I), (II), y (IV), en donde b es 0, y por lo tanto R³ no está presente. En modalidades alternativas, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (IV), en donde b es 1, y R³ es alcoxi C₁₋₆, tal como, por ejemplo, metoxi. En aún otras modalidades, se proveen nuevos compuestos bencimidazol sustituidos de las fórmulas (I) - (III), en donde c es 1 o 2, y al menos un R⁴ es halo(alquilo C₁₋₆), tal como, por ejemplo, trifluorometilo.

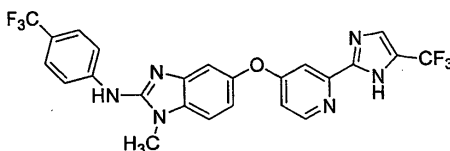
25 En algunas modalidades, R¹, R², R³, y R⁴ pueden estar opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, halo(alquilo C₁₋₆), alcoxi C₁₋₆, y halo(alcoxi C₁₋₆).

En algunas modalidades, R¹, R², R³, y R⁴ pueden estar opcionalmente sustituidos con uno a tres sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C₁₋₆, halo(alquilo C₁₋₆), alcoxi C₁₋₆, y halo(alcoxi C₁₋₆).

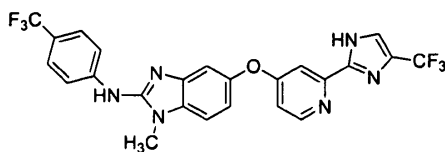
30 En algunas modalidades, R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de halo, alcoxi C₁₋₆, halo(alquilo C₁₋₆), hidroxilo, halo(alcoxi C₁₋₆), halo(alquil C₁₋₆)sulfonilo, heteroarilo, halo(alquil C₁₋₆)sulfanilo, heterocicloalquilo, y (alquil C₁₋₆)heterocicloalquilo. En algunas de tales modalidades, a es 1 y R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de 2-cloro, 2-etilo, 2-trifluorometilo, 3-trifluorometilo, 4-trifluorometilo, 3-tert-butilo, 4-tert-butilo, 3-etilo, 4-etilo, 4-cloro, 4-bromo, 4-trifluorometoxi, 4-trifluorometilsulfanilo, 4-trifluorometilsulfonilo, y 4-(4-metilpiperazinilo). En aún otras modalidades, a es 2 y cada R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de 2-flúor, 2-cloro, 2-hidroxilo, 2-metoxi, 3-metoxi, 5-metoxi, 4-cloro, 4-flúor, 3-trifluorometilo, 4-trifluorometilo, 5-trifluorometilo, 5-piridinilo, 5-piridinil-3-ilo, 5-piridinil-4-ilo, 3-tetrahidrofuran-3-ilo, 3-isopropilo, 5-isopropilo, y 5-tert-butilo.

40 En algunas modalidades, R⁴ se selecciona del grupo que consiste de alquilo C₁₋₆, hidroxilo(alquilo C₁₋₆), halo(alquilo C₁₋₆), halo(alquil C₁₋₆)sulfanilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, (alquil C₁₋₆)heterocicloalquilo, carbonitrilo, fenilo, halo(alquil C₁₋₆)fenilo, (alquil C₁₋₆)heterocicloalquilcarbonilo, y hidroxilo(alquilaminocarbonilo C₁₋₆). En algunas de tales modalidades, c es 1 y R⁴ se selecciona del grupo que consiste de trifluorometilo, carbonitrilo, fenilo, trifluorometilsulfanilo, metoxicarbonilo, 4-etilpiperazinilo, 4-etilpiperazinil-1-carbonilo, o 2-hidroxietilaminocarbonilo. En aún otras modalidades, c es 2 y cada R⁴ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de metilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-trifluorometilfenilo, trifluorometilo, etoxicarbonilo, hidroximetilo, y fenilo.

45 En otras modalidades se provee un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en donde el compuesto tiene la fórmula:



o un tautómero del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero que tiene la fórmula:



En otros aspectos, la presente invención provee un compuesto de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método para el tratamiento de trastornos relacionados con Raf en un individuo humano o animal que necesite de tal tratamiento que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad del compuesto efectiva para reducir o impedir el crecimiento del tumor en el individuo.

En aún otros aspectos, la presente invención provee un compuesto de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método para el tratamiento de trastornos relacionados con Raf en un individuo humano o animal que requiera de tal tratamiento que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad del compuesto efectiva para reducir o impedir el crecimiento del tumor en el individuo en combinación con al menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer.

En aún otros aspectos, la presente invención provee un compuesto de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método para el tratamiento de trastornos relacionados con Raf en un individuo humano o animal que requiera de tal tratamiento que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad del compuesto efectiva para reducir o impedir el crecimiento del tumor en el individuo en combinación con al menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer. Una cantidad de agentes adecuados contra el cáncer para ser usados como una combinación de agentes terapéuticos son contemplados en la presente invención. En realidad, los métodos contemplan, pero no se limitan a, la administración de numerosos agentes contra el cáncer tales como: agentes que induzcan apoptosis; polinucleótidos (por ejemplo, ribozimas); polipéptidos (por ejemplo, enzimas); fármacos; miméticos biológicos; alcaloides; agentes de alquilación; antibióticos antitumorales; antimetabolitos; hormonas; compuestos de platino; anticuerpos monoclonales conjugados con fármacos contra el cáncer, toxinas, y/o radionúclidos; modificadores de respuesta biológica (por ejemplo interferones [por ejemplo IFN- α , etc.] e interleuquinas [por ejemplo IL-2, etc.], etc.); agentes sensibles a inmunoterapia; factores de crecimiento hematopoyético; agentes que inducen diferenciación de células tumorales (por ejemplo ácido retinoico completamente trans, etc.); reactivos de terapia génica; reactivos de terapia antisentido y nucleótidos; vacunas tumorales; inhibidores de angiogénesis, y similares. Otros numerosos ejemplos de compuestos quimioterapéuticos y terapias contra el cáncer adecuados para administración conjunta con los compuestos divulgados de fórmula (I), (II), (III), o (IV) son conocidos por aquellos capacitados en el arte.

En modalidades preferidas, se utilizan compuestos contra el cáncer en combinación con compuestos de la presente invención que incluyen agentes que inducen o estimulan apoptosis. Los agentes que inducen apoptosis incluyen, pero no se limitan a, radiación; inhibidores de quinasa (por ejemplo, inhibidor de quinasa Receptora del Factor de Crecimiento Epidérmico [EGFR], inhibidor de quinasa Receptora del Factor de Crecimiento Vascular [VGFR], inhibidor de quinasa Receptora del Factor de Crecimiento de Fibroblastos [FGFR], inhibidor de quinasa Receptora del Factor de Crecimiento derivada de Plaquetas [PGFR] I, e inhibidores de quinasa Bcr-Abl tales como STI-571, Gleevec, y Glivec); moléculas antisentido; anticuerpos [por ejemplo, Herceptin y Rituxan]; antiestrógenos [por ejemplo, raloxifeno y tamoxifeno]; antiandrógenos [por ejemplo, flutamida, bicalutamida; finasteride, aminoglutetamida, ketoconazol, y corticosteroides]; inhibidores de ciclooxigenasa 2 (COX-2) [por ejemplo, Celecoxib, meloxicam, NS-398, y fármacos no esteroideos antiinflamatorios (NSAIDs)]; y fármacos quimioterapéuticos contra el cáncer [por ejemplo, irinotecano, (Camptosar), CPT-11, fludarabina (Fludara), dacarbazina (DTIC), dexametasona, mitoxantrona, Mylotarg, VP-16, cisplatino, 5-FU, Doxrubicina, Taxotere o taxol]; moléculas de señalización celular; ceramidas y citoquinas; y estaurosprina, y similares.

En otros aspectos, la presente invención provee composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) junto con un portador farmacéuticamente aceptable adecuado para administración a un individuo humano o animal, ya sea solo o junto con otros agentes anticancerígenos.

También se describen aquí métodos para la fabricación de compuestos de fórmula (I), (II), (III), o (IV).

En aún otros aspectos, la presente invención provee compuestos que son inhibidores de la enzima quinasa Raf. Ya que la enzima es una efectora secuencia abajo de p21^{ras}, los presentes inhibidores son útiles en composiciones farmacéuticas para uso humano o veterinario donde la inhibición de la ruta de la quinasa Raf está indicada, por ejemplo, en el tratamiento de tumores y/o el crecimiento de células cancerosas mediados por quinasa Raf. En particular, los compuestos son útiles en el tratamiento de cáncer humano o animal, por ejemplo, cáncer de múrido,

ya que el progreso de estos cánceres depende de la cascada de transducción de la señal de la proteína Ras y por lo tanto es susceptible de tratamiento por medio de la interrupción de la cascada por inhibición de la actividad de la quinasa Raf. Por lo tanto, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de cánceres sólidos, tales como, por ejemplo, carcinomas (por ejemplo, de los pulmones, el páncreas, la tiroides, la vejiga o el colon), trastornos mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide, mieloma múltiple, y eritroleucemia), adenomas (por ejemplo, adenoma vellosos del colon), o sarcomas (por ejemplo, osteosarcoma).

"Inhibidor de Raf" es utilizado aquí para referirse a un compuesto que exhibe un IC_{50} con respecto a la actividad de la quinasa Raf de aproximadamente no más de 100 μM y más típicamente aproximadamente no más de 50 μM , de acuerdo a lo medido en el Ensayo de Filtración de Raf/Mek descrito en forma general aquí más adelante. Las isoformas preferidas de la quinasa Raf en las cuales se mostrará que los compuestos de la presente invención se inhiben, incluyen A-Raf, B-Raf, y C-Raf (Raf-1). " IC_{50} " es aquella concentración de inhibidor que reduce la actividad de una enzima (por ejemplo, la quinasa Raf) hasta la mitad del nivel máximo. Se ha descubierto que los compuestos representativos de la presente invención exhiben actividad inhibitoria contra Raf. Los compuestos de la presente invención exhiben preferiblemente un IC_{50} con respecto a Raf de aproximadamente no más de 10 μM , más preferiblemente, aproximadamente no más de 5 μM , incluso más preferiblemente aproximadamente no más de 1 μM , y lo más preferible, aproximadamente no más de 200 nM, de acuerdo a lo medido en los ensayos de la quinasa Raf descritos aquí.

Como se la utiliza aquí, la frase "ruta de transducción de la señal de MAPK" es una abreviatura que representa la ruta de transducción de la señal de la proteína quinasa activada por Mitógeno en un módulo que se forma de las moléculas de señalización de Ras-Raf MEK1-ERK.

"Alquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo saturados que no contienen heteroátomos e incluye grupos alquilo de cadena recta tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, y similares. Alquilo también incluye isómeros de cadena ramificada de grupos alquilo de cadena recta, incluyendo pero sin limitarse a, los siguientes que se suministran a manera de ejemplo: $-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH(CH_2CH_3)_2$, $-C(CH_3)_3$, $-C(CH_2CH_3)_3$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH(CH_2CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$, $-CH_2C(CH_2CH_3)_3$, $-CH(CH_3)-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, $-CH_2CH_2CH(CH_2CH_3)_2$, $-CH_2CH_2C(CH_3)_3$, $-CH_2CH_2C(CH_2CH_3)_3$, $-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, y otros. De este modo los grupos alquilo incluyen grupos alquilo primarios, grupos alquilo secundarios, y grupos alquilo terciarios. La frase "alquilo C_{1-12} " se refiere a grupos alquilo que tienen de uno a doce átomos de carbono. La frase "alquilo C_{1-6} " se refiere a grupos alquilo que tienen de uno a seis átomos de carbono.

"Alqueno" se refiere a grupos hidrocarbilo de cadena recta o ramificada que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono y que tienen preferiblemente 1 sitio de insaturación de vinilo ($>C=C<$). Tales grupos están ejemplificados, por ejemplo, por vinilo, alilo, y but-3-en-1-ilo. Dentro de este término se encuentran incluidos los isómeros *cis* y *trans* o mezclas de estos isómeros.

"Alcoxi" se refiere a RO- en donde R es un grupo alquilo. La frase "alcoxi C_{1-6} " como se la utiliza aquí se refiere a RO en donde R es un grupo alquilo C_{1-6} . Ejemplos representativos de grupos alcoxi C_{1-6} incluyen metoxi, etoxi, *t*-butoxi, y similares.

"(Alcoxi C_{1-6})carbonilo" se refiere a éster $-C(=O)-OR$ en donde R es alquilo C_{1-6} . "Amidino" se refiere al grupo $-C(=NH)NH_2$. "Amidina" se refiere a un compuesto que contiene tal grupo.

"Aminocarbonilo" se refiere aquí al grupo $-C(O)-NH_2$.

"Alquilaminocarbonilo C_{1-6} " se refiere al grupo $-C(O)-NRR'$ donde R es alquilo C_{1-6} y R' se selecciona de entre hidrógeno y alquilo C_{1-6} .

"Carbonilo" se refiere al grupo divalente $-C(O)-$.

"Carboxilo" se refiere a $-C(=O)-OH$.

"Ciano", "carbonitrilo", o "nitrito" se refiere a $-CN$.

"Carbonitril(alquilo C_{1-6})" se refiere a alquilo C_{1-6} sustituido con $-CN$.

"Cicloalquilo" se refiere a un sustituyente alquilo cíclico. Los grupos cicloalquilo típicos tienen de 3 a 8 átomos en el anillo de carbono. Los grupos cicloalquilo representativos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, i ciclooctilo.

"Halógeno" o "halo" se refiere a grupos cloro, bromo, flúor, y yodo.

"Halo(alquilo C₁₋₆)" se refiere a un radical alquilo C₁₋₆ sustituido con uno o más átomos de halógeno, preferiblemente uno a cinco átomos de halógeno. Un grupo halo(alquilo C₁₋₆) más preferido es trifluorometilo.

"Halo(alquil C₁₋₆)fenilo" se refiere a un grupo fenilo sustituido con un grupo halo(alquilo C₁₋₆).

- 5 "Halo(alcoxi C₁₋₆)" se refiere a un radical alcoxi sustituido con uno o más átomos de halógeno, preferiblemente uno a cinco átomos de halógeno. Un grupo halo(alcoxi C₁₋₆) más preferido es trifluorometoxi.

"Halo(alquil C₁₋₆)sulfonilo" y "halo(alquil C₁₋₆)sulfanilo" se refieren a una sustitución de grupos sulfonilo y sulfanilo con grupos halo(alquilo C₁₋₆) en donde sulfonilo y sulfanilo son como se define aquí.

- 10 "Heteroarilo" se refiere a un grupo aromático que tiene de 1 a 4 heteroátomos como átomos del anillo en un anillo aromático siendo el resto de los átomos del anillo átomos de carbono. Los heteroátomos adecuados empleados en compuestos de la presente invención son nitrógeno, oxígeno, y azufre, en donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados. Los ejemplos de grupos heteroarilo tienen de 5 a 14 átomos en el anillo e incluyen, por ejemplo, benzimidazolilo, benzothiazolilo, benzoxazolilo, diazapinilo, furanilo, pirazinilo, pirazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirroilo, oxazolilo, isoxazolilo, imidazolilo, indolilo, indazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, tiazolilo, tienilo, y triazolilo.
- 15

- "Heterocicloalquilo" se refiere aquí a sustituyentes cicloalquilo que tienen de 1 a 5, y más típicamente de 1 a 2 heteroátomos en la estructura del anillo. Los heteroátomos adecuados empleados en compuestos de la presente invención son nitrógeno, oxígeno, y azufre, en donde los átomos de nitrógeno y de azufre pueden estar opcionalmente oxidados. Las unidades estructurales heterocicloalquilo representativas incluyen, por ejemplo, morfolino, piperazinilo, piperidinilo, y similares.
- 20

"(Alquil C₁₋₆)heterocicloalquilo" se refiere a un grupo heterocicloalquilo sustituido con un grupo alquilo C₁₋₆.

"Heterocicloalquil(alquilo C₁₋₆)" se refiere a un alquilo C₁₋₆ sustituido con heterocicloalquilo. "Heterocicloalquilcarbonilo" se refiere aquí al grupo -C(O)-R¹⁰ en donde R¹⁰ es heterocicloalquilo.

"(Alquil C₁₋₆)heterocicloalquilcarbonilo" se refiere al grupo -C(O)-R¹¹ en donde R¹¹ es (alquil C₁₋₆)heterocicloalquilo.

- 25 "Hidroxi" se refiere a -OH.

"Hidroxi(alquilo C₁₋₆)" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con hidroxilo. "Hidroxi(alquilaminocarbonilo C₁₋₆)" se refiere a un grupo alquilaminocarbonilo C₁₋₆ sustituido con hidroxilo.

"Imidato" o "éster de imidato" se refiere al grupo -C(=NH)O- o a un compuesto que contiene tal grupo. Los ésteres de imidato incluyen, por ejemplo, al metil éster de imidato -C(=NH)OCH₃.

- 30 "Nitro" se refiere a NO₂.

"Sulfonilo" se refiere aquí al grupo -SO₂-.

- "Sulfanilo" se refiere aquí al grupo -S-. "Alquilsulfonilo" se refiere a un sulfonilo sustituido de la estructura -SO₂R¹² en la cual R¹² es alquilo. "Alquilsulfanilo" se refiere a un sulfanilo sustituido de la estructura -SR¹² en la cual R¹² es alquilo. Los grupos alquilsulfonilo y alquilsulfanilo empleados en compuestos de la presente invención incluyen (alquil C₁₋₆)sulfonilo y (alquil C₁₋₆)sulfanilo. Por lo tanto, los grupos típicos incluyen, por ejemplo, metilsulfonilo y metilsulfanilo (es decir, en donde R¹² es metilo), etilsulfonilo, y etilsulfanilo (es decir, en donde R¹² es etilo), propilsulfonilo, y propilsulfanilo (es decir, en donde R¹² es propilo), y similares.
- 35

- "Grupo de protección hidroxilo" se refiere a grupos de protección para un grupo OH. El término, como se lo utiliza aquí también se refiere a protección del grupo OH de un ácido COOH. Los grupos de protección hidroxilo adecuados así como las condiciones adecuadas para protección y desprotección de grupos funcionales particulares son bien conocidos en el arte. Por ejemplo, muchos de tales grupos de protección están descritos en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Third Edition, Wiley, New York, 1999. Tales grupos de protección hidroxilo incluyen éteres de alquilo C₁₋₆, bencil éteres, p-metoxibencil éteres, silil éteres, y similares.
- 40

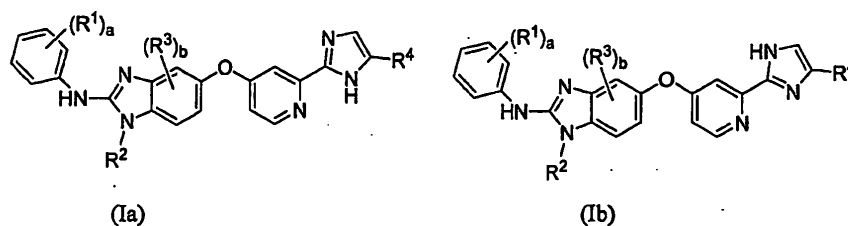
El término "polimorfo" se refiere a las diferentes formas cristalinas de un compuesto. Los polimorfos pueden diferir entre sí en diferentes propiedades físicas tales como, por ejemplo, diferencias en sus patrones de difracción de rayos X, patrones de espectroscopía de absorción infrarroja, puntos de fusión, estabilidad, o solubilidad.

5 "Opcionalmente sustituido" o "sustituido" se refiere al reemplazo de uno o más átomos de hidrógeno con un radical monovalente o divalente.

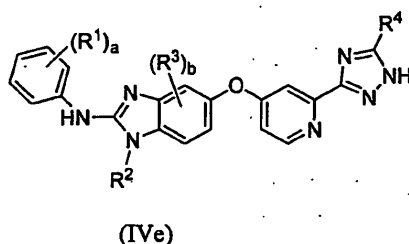
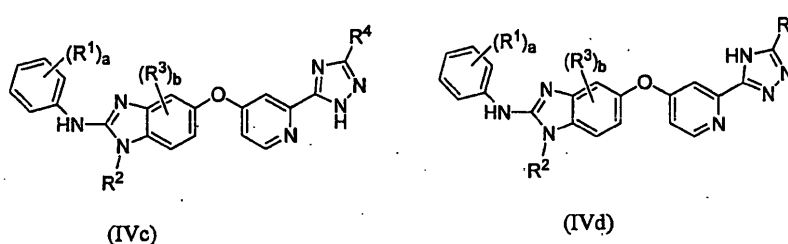
Cuando el sustituyente sustituido incluye un grupo de cadena recta, la sustitución puede presentarse ya sea dentro de la cadena (por ejemplo, 2-hidroxipropilo, 2-aminobutilo, y similares) o en el terminal de la cadena (por ejemplo, 2-hidroxietilo, 3-cianopropilo, y similares). Los sustituyentes sustituidos pueden ser arreglo de cadena recta, ramificada o cíclica de carbono enlazado en forma covalente o heteroátomos.

10 Se entiende que las definiciones anteriores no pretenden incluir patrones de sustitución inadmisibles (por ejemplo, metilo sustituido con cinco grupos flúor o un átomo de halógeno sustituido con otro átomo de halógeno). Tales patrones de sustitución inadmisibles son bien conocidos por el experto en la materia.

También será evidente para aquellos capacitados en el arte que los compuestos de la invención, incluidos los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o sus estereoisómeros y polimorfos, así como las sales farmacéuticamente aceptables, o ésteres de cualquiera de ellos, pueden ser sometidos a tautomerización y pueden existir por lo tanto en diferentes formas tautoméricas en donde un protón de un átomo de una molécula se desplaza a otro átomo y los enlaces químicos entre los átomos de las moléculas se reorganizan en consecuencia. Ver, por ejemplo, March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, páginas 69 - 74 (1992). Como se lo utilize aquí, el término "tautómero" se refiere a los compuestos producidos por el desplazamiento del protón, y debe entenderse que todas las formas tautoméricas, en la medida en que pueden existir, están incluidas dentro de la invención. Por ejemplo, el tautómero de un compuesto de fórmula (Ia), más abajo que es un compuesto de fórmula (I) donde c es 1, es un compuesto de fórmula (Ib). En forma similar, el tautómero de un compuesto de fórmula (IVc) es un compuesto de fórmula (IVd) o (IVe).



25



Los compuestos de la invención, incluidos los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o sus tautómeros y polimorfos, así como las sales farmacéuticamente aceptables, y ésteres de cualquiera de ellos, pueden incluir átomos de carbono sustituidos en forma asimétrica. Tales átomos de carbono sustituidos en forma asimétrica pueden resultar en los compuestos de la invención que existen en enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que pueden ser definidas, en términos de estereoquímica absoluta, tal como en formas (R) o (S). Como resultado, todos los isómeros posibles, estereoisómeros individuales en sus formas ópticamente puras, mezclas de los mismos, mezclas racémicas (o "racematos"), mezclas de diastereómeros, así como diastereómeros individuales de los compuestos de la invención están incluidos en la presente invención. Los términos configuración "S" y "R", como se los utiliza aquí, son como los definidos por la IUPAC 1974 RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY, Pure Appl. Chem. 45: 13 - 30 (1976). Los términos α y β se emplean para las posiciones en el anillo de compuestos cíclicos. El lado α del plano de referencia es aquel lado sobre el cual se encuentra el sustituyente preferido en la posición inferior numerada. Aquellos sustituyentes que se encuentran sobre el lado opuesto del plano de referencia se denominan descriptor β . Debe observarse que este uso es diferente de aquel para estereoprecursores cíclicos, en los cuales " α " significa "por debajo del plano" y denota configuración absoluta. Los términos configuración α y β , como se los utiliza aquí, son como se definen por medio del párrafo 203, CHEMICAL ABSTRACTS INDEX GUIDE-APPENDIX IV (1987).

También será evidente para aquellos capacitados en el arte que los compuestos de la invención, incluidos los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o sus estereoisómeros y tautómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables, y ésteres de cualquiera de ellos, pueden existir en diferentes formas cristalinas (o "polimorfos") que tienen propiedades físicas distintivas. Debe entenderse que todos los polimorfos de los compuestos de la invención, incluidos sus estereoisómeros, y tautómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de ellos, en la medida en que puedan existir, ya sea en forma aislada o como mezclas de los mismos, están incluidos dentro de la invención.

Como se lo utiliza aquí, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere al ácido no tóxico o a las sales de metal alcalinotérreo del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster de Formulas (I), (II), (III), o (IV). Estas sales pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos de las Fórmulas (I), (II), (III), o (IV), o por medio de reacción separada de las funciones base o ácido con un ácido o una base orgánica o inorgánica adecuada, respectivamente. Las sales representativas incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenesulfonato, bisulfato, butirato, camforato, camforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanesulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanesulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilproionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato. También, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden ser cuaternizados con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dialquilo como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de fenil alquilo como bromuros de bencilo y fenetilo, y otros. Productos dispersables o solubles en agua o en aceite son obtenidos de este modo.

Ejemplos de ácidos que pueden ser empleados para formar sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, ácido maléico, ácido metanosulfónico, ácido succínico y ácido cítrico. Se pueden preparar sales de adición básica *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos de fórmula (I), o separadamente por reacción de unidades estructurales de ácido carboxílico con una base adecuada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable o con amonio, o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes con base en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, sales de aluminio y similares, así como amonio no tóxico, amonio cuaternario, y cationes de amina, incluyendo, pero sin limitarse a amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básica incluyen dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares.

Las sales y formulaciones de los compuestos de la invención son también divulgados en solicitudes provisionales tituladas "Formulations For Benzimidazole Pyridyl Ethers" (número serial de los Estados Unidos 60/832715; número de expediente del abogado PP028237.0001) presentada el 21 de julio de 2006 y "Salts of Benzimidazolyl Pyridyl Ethers and Formulations Thereof" (número de expediente del abogado PP028258.0001) presentada el 30 de agosto de 2006 cada una de las cuales es incorporada aquí como referencia en su totalidad.

Como se lo utiliza aquí, el término "éster farmacéuticamente aceptable" se refiere a ésteres, que hidrolizan *in vivo* e incluyen a aquellos que se descomponen fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto original o una sal del mismo. Los grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, a aquellos derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanico, alquenoico, cicloalcanico y alcanodioico, en los

cuales cada unidad estructural alquilo o alquenilo tienen convenientemente no más de 6 átomos de carbono. Ejemplos de ésteres particulares incluyen formatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

5 Será evidente para aquellos capacitados en el arte que los compuestos de la invención, incluidos los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o sus tautómeros, estereoisómeros, y polimorfos, así como las sales farmacéuticamente aceptables y ésteres de cualquiera de ellos, pueden ser procesados *in vivo* a través del metabolismo en un organismo humano o animal o célula para producir metabolitos farmacológicamente activos que retienen actividad como inhibidores. Los metabolitos activos de un compuesto de la invención pueden ser identificados utilizando técnicas de rutina conocidas en el arte. Ver, por ejemplo, Bertolini, G. et al., J. Med. Chem. 40: 2011 - 2016 (1997); Shan, D. et al., J. Pharm. Sci. 86(7): 765 - 767; Bagshawe K., Drug Dev. Res. 34: 220 - 230 (1995); Bodor, N., Advances in Drug Res. 13: 224 - 331 (1984); Bundgaard, H., Design of Prodrugs (Elsevier Press 1985); y Larsen, I. K., Design y Application of Prodrugs, Drug Design y Development (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991).

15 El término "cáncer" se refiere a una enfermedad como el cáncer que puede ser beneficiosamente tratada por medio de la inhibición de una quinasa, particularmente quinasa Raf, incluyendo, por ejemplo, cánceres sólidos, tales como carcinomas (por ejemplo, de los pulmones, páncreas, tiroides, ovario, vejiga, mama, próstata, o colon), melanomas, trastornos mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide, mieloma múltiple, y eritroleucemia), adenomas (por ejemplo, adenoma vellosos de colon), y sarcomas (por ejemplo, osteosarcoma).

En modalidades representativas de la invención, los compuestos de la invención incluyen, por ejemplo, {1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometilfenil) -amina,

20 (2-Fluoro-5-piridin-3-il-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

(2-Fluoro-5-piridin-4-il-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

25 (4- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,

{1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(3- trifluorometil- fenil) -amina,

(3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

(4-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

30 (4-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

(4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

35 {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometoxi-fenil) -amina,

(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2-[5-metil-4-(3-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina,

(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2-[5-metil-4-(4-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina,

40 Éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico,

(2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-il) -metanol,

2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo,

- (3-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {1- Metil- 5-[2- (5- fenil-1H-imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]-1H-benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometilsulfanil- fenil) -amina,
- 5 (3- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- [4-Fluoro-3-(tetrahidro-furan-3-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol -2-il} -amina,
- (4-Bromo-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 10 (4-Fluoro-3-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometilsulfanilfenil) -amina,
- (2-Fluoro-5-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 15 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (5-tert-Butil-2-flúor-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 20 (2-Cloro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo, (5-tert-Butil-2-cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 25 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1Hbenzoimidazol-2 -il} -amina,
- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1Hbenzoimidazol-2-il} -amina,
- {1-Metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil-fenil) -amina,
- 30 (3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 35 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- metil- 4- fenil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- 40 {1-Metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil-fenil) -amina,

- (5-tert-Butil-2-flúor-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- [4-(4-Metil-piperazin-1-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 5 Éster metílico del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- Éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-cloro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico,
- (2-Fluoro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 10 (2-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2,5-Dimetoxi-fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- (3,5-Dimetoxi-fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- 15 {1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(2- trifluorometil- fenil) -amina,
- (2-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[2-(2-flúor-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-il) -metanona,
- 20 (2-hidroxi-etil) -amida del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- (1-Etil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -(2-flúor-5-trifluorometil fenil) -amina,
- 25 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{6-metoxi-1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {6-Metoxi-1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina,
- (4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[1-metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-il) -metanona,
- 30 {1- Etil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometil- fenil) -amina,
- (2-hidroxi-etilo)-amida del ácido 2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- 2-{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-ilamino}-5-trifluorometil fenol, y
- 35 3-{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-ilamino}-6-trifluoro metil -fenol;
- o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster de los mismos o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

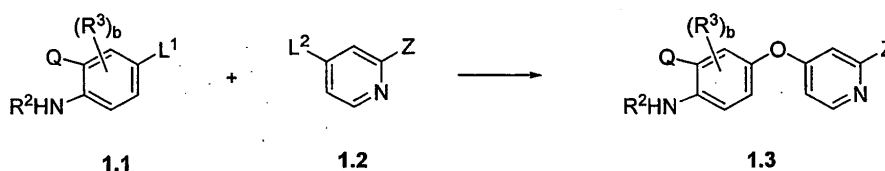
Se divulgan además procesos para preparar los compuestos de las Formulas (I), (II), (III), o (IV) y los intermediarios sintéticos útiles en tales procesos.

Se divulgan además procesos para preparar los compuestos de la invención y los intermediarios sintéticos útiles en tales procesos, como se describe en forma detallada a continuación.

Métodos de síntesis

- 5 El esquema 1 ilustra la construcción de la unidad estructural central de biaril éter de los compuestos de la invención. El compuesto **1.1** reacciona con el compuesto **1.2** en donde uno entre L¹ o L² es halo y el otro entre L¹ o L² es OH para formar éter **1.3**. El acoplamiento puede ser llevado a cabo en un solvente orgánico tal como acetonitrilo o dimetilsulfóxido en presencia de una base y puede también ser llevado a cabo a temperaturas elevadas o de reflujo. Las bases adecuadas incluyen K₂CO₃, CaCO₃, KOH, NaOH, o KF·Al₂O₃ (Journal of Organic Chemistry, Vol. 63, No. 18, 1998 páginas 6338 - 6343). El grupo Q en el compuesto **1.1** puede ser NH₂ o un precursor amino tal como NO₂ o un grupo amino protegido que pueda ser luego convertido a la amina reduciendo o desprotegiendo respectivamente los precursores amino. El grupo Z en el compuesto **1.2** puede ser un grupo imidazolilo sustituido con uno o dos grupos R⁴ o un grupo funcional que puede ser utilizado para formar tal grupo imidazolilo. Los grupos funcionales adecuados incluyen un aldehído, o cualquier precursor aldehído tal como un éster o carbonitrilo que puede ser luego convertido al aldehído. Los grupos éster y carbonitrilo pueden ser reducidos al aldehído con un agente reductor tal como hidruro de diisobutilaluminio. Z puede ser también -CH₂OR⁵, en donde R⁵ es un grupo de protección hidroxilo. El aldehído puede ser desenmascarado en una etapa posterior por desprotección del grupo R⁵ y oxidación del alcohol resultante hasta el aldehído. La conversión del aldehído hasta un grupo imidazolilo sustituido es mostrada en el esquema 3. Otros métodos para la formación del grupo imidazol sustituido son mostrados en el esquema 6.

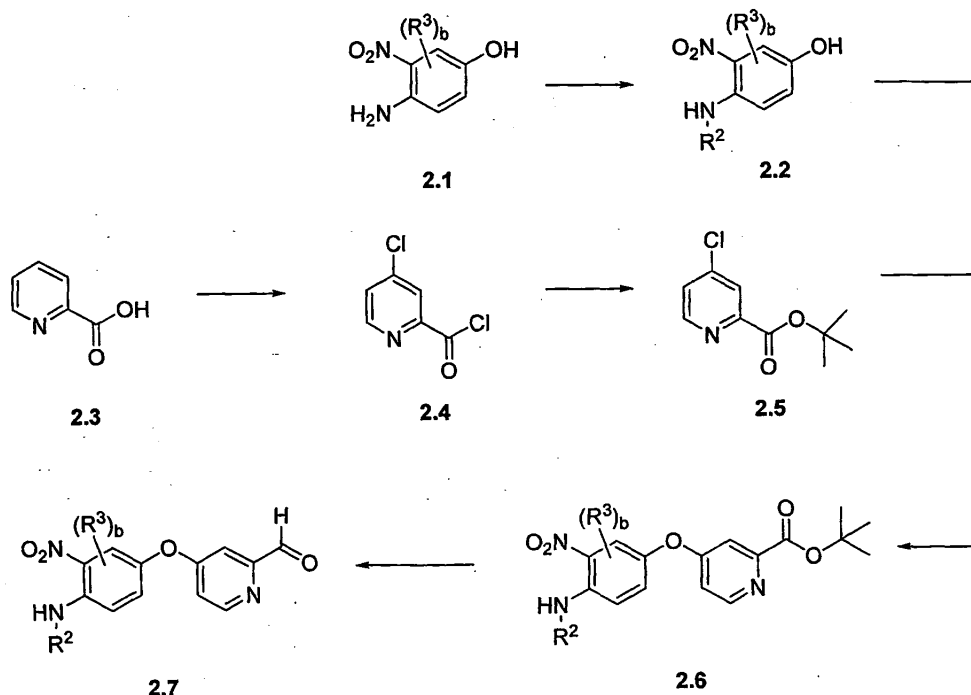
Esquema 1



- 20 El esquema 2 muestra un ejemplo de una síntesis de ciertos éteres biarilo. Se entiende que para propósitos de ilustración, el esquema 2 emplea los siguientes patrones de sustitución: Q es NO₂, L¹ es OH, L² es Cl, y Z es un t-butyl éster. Un ejemplo de la síntesis del aldehído **2.7** en donde R² es metilo y b es 0 es mostrado en el Ejemplo 1. La amina **2.1** puede ser convertida a alquil amina **2.2** a través de una cantidad de métodos conocidos. En un aspecto, la amina **2.1** es tratada con anhídrido acético y ácido fórmico para formar la formamida correspondiente que puede ser reducida a alquil amina **2.2**. Los agentes de reducción adecuados incluyen NaBH₄ en presencia de BF₃(OCH₂CH₃)₂. Alternativamente, la alquil amina **2.2** puede ser sintetizada por reacción de la amina **2.1** con anhídrido trifluoroacético, Alquilación de la amida correspondiente con un agente de alquilación tal como un haluro de alquilo, y remoción del grupo de protección trifluoroacetamida por tratamiento con una base tal como NaOH.
- 25 El cloruro **2.5** puede ser preparado por medio de tratamiento del ácido picolínico **2.3** con exceso de cloruro de tionilo para formar ácido clorhídrico **2.4** que es luego expuesto a di-t-butyl dicarbonato y piridina para producir cloruro **2.5**. El acoplamiento del alcohol de la alquil amina **2.2** con cloruro **2.5** bajo condiciones básicas produce éter **2.6** que puede ser convertido directamente a aldehído **2.7** por medio de reducción con hidruro de diisobutilaluminio o en dos etapas por reducción de éster **2.6** hasta el alcohol seguido por oxidación hasta el aldehído.

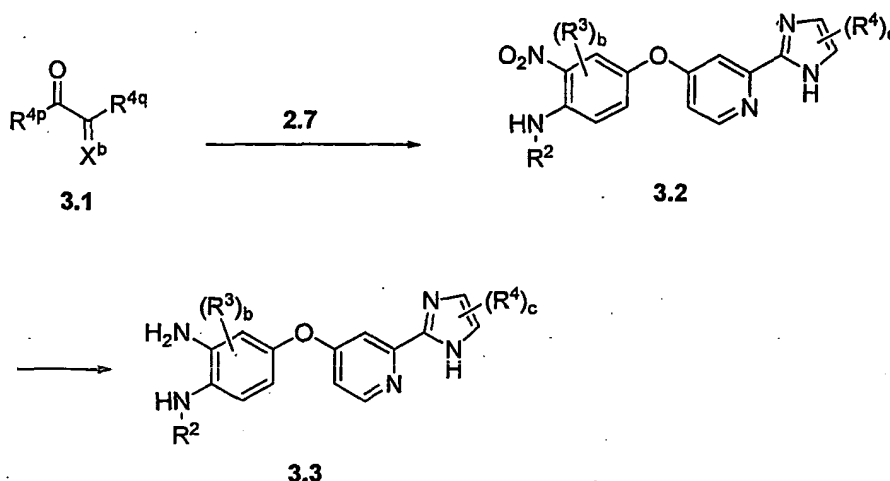
35

Esquema 2



5 El esquema 3 ilustra la formación del anillo de imidazol. El aldehído **2.7** puede reaccionar con el compuesto **3.1** en donde X^b es = O o NHOH y R^{4p} y R^{4q} son independientemente H o R^4 , en donde R^4 es como se definió anteriormente, con la condición de que al menos uno entre R^{4p} y R^{4q} sea R^4 . La reacción puede ser llevada a cabo en un solvente polar tal como una mezcla de acetato de etilo /etanol y en presencia de NH₄OH para proveer el compuesto **3.2**. El grupo nitro del compuesto **3.2** puede ser reducido hasta amina **3.3** por tratamiento con un agente reductor tal como ditionito de sodio (Na₂S₂O₄).

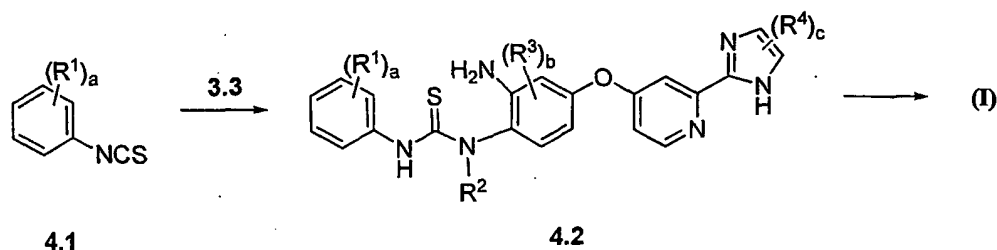
Esquema 3



10

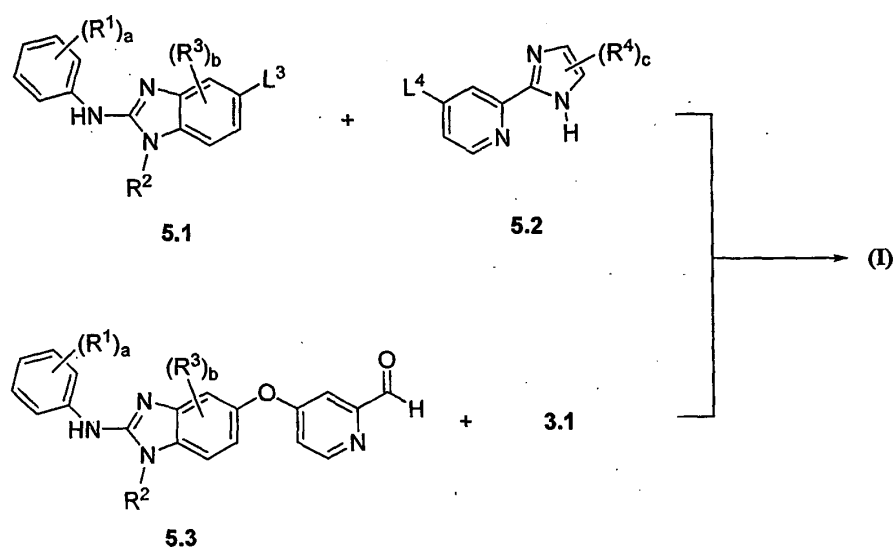
15 El esquema 4 ilustra la formación del anillo de bencimidazol. La diamina **3.3** reacciona con tiocianato **4.1** para proveer tiourea **4.2**. El tratamiento de **4.2** con un agente de desulfurización produce un compuesto de Formula (I). El término "agente de desulfurización" se refiere a agentes adecuados para efectuar el cierre del anillo tal como FeCl₃, yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (reactivo de Mukaiyama), cloruro de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolio, POCl₃, o un haluro de alquilo tal como yoduro de metilo. También pueden ser utilizados reactivos modificados de Mukaiyama (Journal of Organic Chemistry, Vol. 70, No. 7, 2005 páginas 2835 - 2838).

Esquema 4



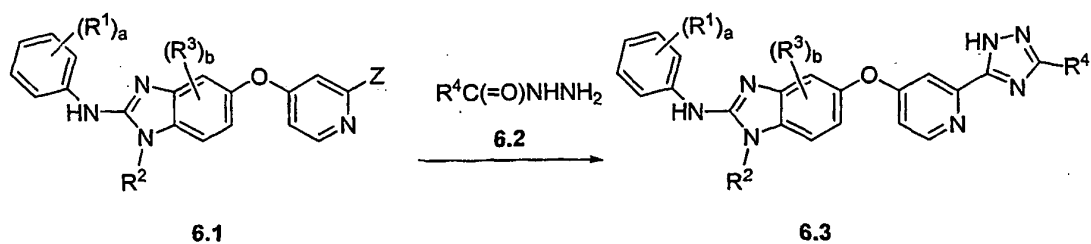
Los compuestos de la invención pueden ser sintetizados alternativamente por modificación de la secuencia de las reacciones de acoplamiento. El esquema 5 ilustra el acoplamiento de **5.1** con **5.2** para formar el enlace de éter y el acoplamiento de **5.3** con **3.1** para formar el anillo de imidazol como la penúltima etapa para formar el núcleo pentacíclico completamente acoplado. Para los intermediarios **5.1** y **5.2**, uno entre L^3 o L^4 es halo y el otro entre L^3 o L^4 es OH. Estos intermediarios pueden ser preparados como se muestra en los esquemas anteriores por medio del empleo de materiales de partida adecuados y/o grupos de protección en las secuencias de reacción apropiadas. Tales factores son conocidos por las personas capacitadas en el arte. El aldehído **5.3**, por ejemplo, puede ser preparado por reducción del correspondiente carbonitrilo, cuya síntesis es mostrada en el Ejemplo 60, con hidruro de diisobutilaluminio. La reacción del aldehído **5.3** de acuerdo con el esquema 3 anterior con cetona **3.1** produce los compuestos de Fórmula (I).

Esquema 5



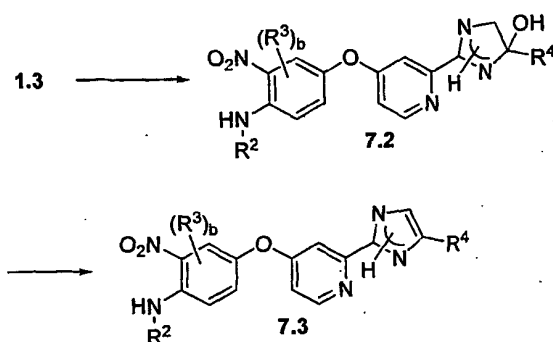
Los compuestos de la invención que tienen un grupo terminal triazol pueden ser preparados como se muestra en el esquema 6 por reacción del compuesto **6.1** en donde Z es un carbonitrilo con hidrazida **6.2**. Un ejemplo de la síntesis del compuesto **6.3** es descrito en el Ejemplo 60.

Esquema 6



Se apreciará que los intermediarios de imidazol utilizados en las reacciones de acoplamiento pueden ser preparados utilizando otras rutas de síntesis. Uno de tales métodos es mostrado en el esquema 7. El compuesto 1.3, en donde Z es CN, es convertido a un compuesto en donde Z es un grupo amidino. Esta transformación puede ser efectuada por medio de la reacción de 1.3 con un alcóxido, tal como metóxido, para convertir el carbonitrilo en un éster imidato que reacciona posteriormente con un reactivo de amonio tal como acetato de amonio o benzoato de amonio para formar la amidina. La reacción de la amidina con el compuesto (Va), en donde X^a es un grupo saliente, proporciona el compuesto alquilado y ciclizado 7.2 o un tautómero del mismo. El calentamiento del compuesto 7.2 conduce a la eliminación de agua (deshidratación) y a la formación del intermediario 7.3. Otras concesiones de deshidratación incluyen el tratamiento de 7.2 con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido metanosulfónico, ácido camforsulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, y ácido trifluoroacético, así como con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. Las cuatro reacciones - formación del éster imidato, formación de amidina, alquilación/ciclización, y deshidratación - típicamente se llevan a cabo en una secuencia en un solo recipiente.

Esquema 7



Los compuestos de la invención son útiles *in vitro* o *in vivo* en la inhibición del crecimiento de las células cancerosas. Los compuestos pueden ser utilizados solos o en composiciones junto con un portador farmacéuticamente aceptable o excipiente. Los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, agentes de procesamiento y modificadores y reforzadores del suministro de fármaco, tales como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, dextrosa, hidroxipropil- β -ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico, y similares, así como combinaciones de cualquiera entre dos o más de los mismos. Otros excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables están descritos en "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Pub. Co., New Jersey (1991), incorporado aquí como referencia.

Cantidades efectivas de los compuestos de la invención generalmente incluyen cualquier cantidad suficiente para inhibir en forma detectable la actividad de Raf por medio de cualquiera de los ensayos descritos aquí, por medio de otros ensayos de actividad de la quinasa Raf conocidos por o que pueden ser fácilmente averiguados por aquellos ordinariamente capacitados en el arte o por medio de la detección de una inhibición o el alivio de los síntomas del cáncer.

La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinada con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variarán dependiendo del huésped tratado y de la forma particular de administración. Se entenderá, sin embargo, que el nivel específico de la dosis para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluida la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, tasa de eliminación, combinación de fármacos, y la severidad de la enfermedad particular sometida a terapia. La cantidad terapéuticamente efectiva para una situación dada puede ser fácilmente determinada por medio de experimentación de rutina y está dentro del juicio y la habilidad del médico tratante.

Para los propósitos de la presente invención, una dosis terapéuticamente efectiva será generalmente una dosis diaria total administrada a un huésped en una sola dosis o en dosis divididas que puede estar en cantidades, por ejemplo, de 0,001 a 1000 mg/kg de peso corporal por día y de 1,0 a 30 mg/kg de peso corporal por día. Las composiciones de las dosis unitarias pueden contener cantidades tales de submúltiplos de las mismas para constituir la dosis diaria.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados en forma oral, parenteral, sublingual, por medio de un atomizador de conversión en aerosol o inhalación, rectal, o en forma tópica en formulaciones de dosis unitarias que contienen portadores, adyuvantes y vehículos convencionales no tóxicos farmacéuticamente aceptables según se desee. La administración tópica puede involucrar también el uso de administración

transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. El término parenteral como se lo utiliza aquí incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intraesternal, o técnicas de infusión.

5 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleosas inyectables estériles pueden ser formuladas de acuerdo con el estado del arte conocido utilizando agentes adecuados de dispersión o de humectación y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-propanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están agua, solución de Ringer, y solución y isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como solvente o como medio de suspensión. Para este propósito se puede emplear cualquier aceite fijo
10 blando incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Se pueden preparar supositorios para administración rectal del fármaco mezclándolo con un excipiente no irritante adecuado tal como manteca de cacao y polietilén glicoles, que son sólidos a temperaturas ordinarias pero líquidos a temperatura rectal y por lo tanto se fundirán en el reto y liberan el fármaco.

15 Las formas de dosificación sólida para administración de oral pueden incluir cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y granulados. En tales formas sólidas de dosificación, el compuesto activo puede ser mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden incluir también, como es práctica normal, sustancias adicionales diferentes a diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, tabletas, y píldoras, las formas de dosificación pueden incluir también agentes amortiguadores. Las tabletas y las píldoras pueden ser preparadas adicionalmente con recubrimientos entéricos.
20

Las formas de dosificación líquidas para administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes comúnmente utilizados en el arte, tal como agua. Tales composiciones pueden incluir también adyuvantes, tales como agentes de humectación, agentes emulsionantes y de suspensión, ciclodextrinas, y agentes edulcorantes, saborizantes, y perfumantes.
25

Los compuestos de la presente invención también pueden ser administrados en la forma de liposomas. Como se conoce en el arte, los liposomas se derivan generalmente de fosfolípidos o de otras sustancias lipídicas. Los liposomas se forman por medio de cristales líquidos hidratados mono o multilaminares que se dispersan en un medio acuoso. Se puede utilizar cualquier lípido metabolizable no tóxico, fisiológicamente aceptable capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposoma pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizantes, preservantes, excipientes, y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar liposomas son conocidos en el arte. Ver, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.W., página 33 y siguientes (1976).
30

35 Aunque los compuestos de la invención pueden ser administrados como el agente farmacéutico activo solo, también pueden ser utilizados en combinación con uno o más de otros agentes utilizados en el tratamiento del cáncer. Los compuestos de la presente invención también son útiles en combinación con agentes terapéuticos conocidos y agentes anticancerosos, y combinaciones de los compuestos divulgados ahora con otros agentes anticancerosos o quimioterapéuticos están dentro del alcance de la invención. Ejemplos de tales agentes pueden ser encontrados en *Cancer Principles and Practice of Oncology*, V. T. Devita y S. Hellman (editors), 6th edition (Feb. 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Una persona ordinariamente capacitada en el arte sería capaz de discernir qué combinaciones y agentes serían útiles con base en las características particulares de los fármacos y del cáncer involucrado. Tales agentes anticancerosos incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: moduladores del receptor de estrógeno, moduladores del receptor de andrógeno, moduladores del receptor retinoide, agentes citotóxicos/citostáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína prenil transferasa, inhibidores de HMG-CoA reductasa y otros inhibidores de angiogénesis, inhibidores de proliferación celular y señalización de supervivencia, agentes inductores de apoptosis, y agentes que interfieren con controles del ciclo celular. Los compuestos de la invención también son útiles cuando se administran conjuntamente con terapia de radiación.
40
45

Por lo tanto, en una modalidad de la invención, los compuestos de la invención son utilizados también en combinación con agentes anticancerosos conocidos que incluyen, por ejemplo, moduladores del receptor de estrógeno, moduladores del receptor de andrógeno, moduladores del receptor retinoide, agentes citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de la proteína prenil transferasa, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la HIV proteasa, inhibidores de la transcriptasa inversa, y otros inhibidores de angiogénesis.
50

Los moduladores del receptor de estrógeno son compuestos que interfieren con o que inhiben el enlazamiento de estrógeno al receptor, independientemente del mecanismo. Los ejemplos de moduladores del receptor de estrógeno incluyen o se limitan a, tamoxifeno, raloxifeno, idoxifeno, LY353381, LY117081, toremifeno, fulvestrant, 4-[7-(2,2-
55

dimetil-1-oxopropoxi-4-metil-2-[4-[2-(1-piperidinil)etoxi]fenil] -2H-1-benzopiran-3-il] -fenil-2,2-dimetil-propanoato, 4,4'-dihidroxi benzofenona-2,4-dinitrofenil-hidrazona, y SH646.

Los moduladores del receptor de andrógeno son compuestos que interfieren con o inhiben el enlazamiento de andrógenos a un receptor de andrógeno. Los ejemplos representativos de moduladores del receptor de andrógeno incluyen finasteride y otros inhibidores de la 5 α -reductasa, nilutamida, flutamida, bicalutamida, liarozol, y acetato de abiraterona. Los moduladores del receptor retinoide son compuestos que interfieren o inhiben en enlazamiento de retinoides a un receptor retinoide. Los ejemplos de moduladores del receptor retinoide incluyen bexaroteno, tretinoína, ácido 13-cis-retinoico, ácido 9-cis-retinoico, α -difluorometilornitina, LX23-7553, trans-N-(4'-hidroxifenil) retinamida, y N4-carboxifenil retinamida.

Agentes citotóxicos y/o citostáticos son compuestos que provocan muerte celular o inhiben la proliferación celular principalmente interfiriendo directamente con el funcionamiento de la célula o inhibiendo o interfiriendo con la mitosis celular, incluidos agentes de alquilación, factores de necrosis tumoral, intercaladores, compuestos activables por hipoxia, agentes de estabilización de microtúbulos/inhibidores de microtúbulos, inhibidores de quinesis mitótica, inhibidores de quinasas involucradas en progresión mitótica, antimetabolitos; modificadores de respuesta biológica; agentes terapéuticos hormonal/antihormonales, factores de crecimiento hematopoyético, agentes terapéuticos dirigidos al anticuerpo monoclonal, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de proteasoma, e inhibidores de la ligasa ubiquitina. Los ejemplos de agentes citotóxicos incluyen, pero no se limitan a, sertenef, cachectina, ifosfamida, tasonermina, lonidamina, carboplatino, altretamina, prednimustina, dibromodulcitol, ranimustina, fotemustina, nedaplatino, oxaliplatino, temozolomida, heptaplatino, estramustina, improsulfan tosilato, trofosfamida, nimustina, cloruro de dibrospidio, pumitepa, lobaplatino, satraplatino, profiromicina, cisplatino, irofulven, dexifosfamida, cis-aminadicloro(2-metilpiridin)platino, bencilguanina, glufosfamida, GPX100, (trans, trans, trans)-bis-mu-(hexano-1,6-diamina)-mu-[diamina-platino(II)]bis[diamina(cloro)platino (II)]tetracloruro, diarizidinilespermina, trióxido de arsénico, 1-(11-dodecilamino-10-hidroxiundecil) -3,7-dimetilxantina, zorubicina, idarubicina, daunorubicina, bisantreno, mitoxantrona, pirarubicina, pinafida, valrubicina, amrubicina, antineoplastona, 3'-desamino-3'-morfolino-13-deoxo-10-hidroxicarminomicina, annamicina, galarubicina, elinafida, MEN10755, y 4-demetoxi-3-desamino-3-aziridinil-4-metilsulfonil-daunorubicina (ver WO00/50032). Un ejemplo representativo de un compuesto activable por hipoxia es tirapazamina. Los inhibidores de proteasoma incluyen, pero no se limitan a, lactacistina y bortezomib. Los ejemplos de agentes estabilizantes de microtúbulos/inhibidores de microtúbulos incluyen paclitaxel, sulfato de vindesina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-8'-norvincalcoloblastina, docetaxol, rizoxina, dolastatina, mivobulina isetonato, auristatina, cemadotina, RPR109881, BMS184476, vinflunina, criptoficina, 2,3,4,5,6-pentafluoro-N-(3-fluoro-4-metoxifenil) benceno sulfonamida, anhidrovinblastina, N,N-dimetil-L-valil-L-valil-N-metil-L-valil-L-prolil-L-prolina-t-butilamida, TDX258, las epotilonas (ver por ejemplo las patentes de los Estados Unidos Nos. 6.284.781 y 6.288.237) y BMS188797. Los ejemplos representativos de inhibidores de topoisomerasa incluyen topotecano, hicaptamina, irinotecano, rubitecano, 6-etoxipropionil-3',4'-O-exo-benciliden-chartreusina, 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazol[3,4,5-kl]acridina-2-(6H)propanamina, 1-amino-9-etilo-5-fluoro-2,3-dihidro-9-hidroxi-4-metil-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':b,7]-indolizino[1,2b]quinolin-10,13(9H,15H) diona, lurtotecano, 7-[2-(N-isopropilamino)etil] - (20S)camptotecina, BNP1350, BNP11100, BN80915, BN80942, fosfato de etoposida, teniposida, sobuzoxano, 2'-dimetilamino-2'-desoxi-etoposida, GL331, N-[2-(dimetilamino)etil] -9-hidroxi-5,6-dimetil-6H-pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, asulacrina, (5a, 5aB, 8aa, 9b)-9-[2-[N-[2-(dimetilamino) etil] -N-metilamino]etil] -5-[4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil] -5,5a,6,8,8a,9-hexa hidrofuro(3',4':6,7)nafta (2,3-d)-1,3-dioxol-6-ona, 2,3-(metilendioxi)-5-metil-7-hidroxi-8-metoxibenzo[c]-fenantridinio, 6,9-bis [(2-aminoetil)amino]benzo[g]isoguinolin-5,10-diona, 5-(3-aminopropil amino)-7,10-dihidroxi-2-(2-hidroxi-etilaminometil) -6H-pirazolo[4,5,1'-de]acridin-6-ona, N-[1-[2(diethylamino)-etilamino]-7-metoxi-9-oxo-9H-tioxanten-4-ilmetil]formamida, N-(2-(dimetilamino)etil)acridin-4-carboxamida, 6-[[2-(dimetilamino) etil]amino]-3-hidroxi-7H-indeno[2,1-c]quinolin-7-ona, y dimesna. Los ejemplos de inhibidores de quinasas mitóticas, tales como la quinesina mitótica humana KSP, están descritos en las Publicaciones PCT WO 01/30768 y WO 01/98278, WO 03/050,064 (Junio 19, 2003), WO 03/050,122 (junio 19, 2003), WO 03/049,527 (junio 19, 2003), WO 03/049,679 (Junio 19, 2003), WO 03/049,678 (Junio 19, 2003) y WO03/39460 (Mayo 15, 2003) y las Solicitudes PCT pendientes Nos. US03/06403 (presentada el 4 de marzo de 2003), US03/15861 (presentada el 19 de mayo de 2003), US03/15810 (presentada el 19 de mayo de 2003), US03/18482 (presentada el 12 de junio de 2003) y US03/18694 (presentada el 12 de junio de 2003). En una modalidad los inhibidores de quinasas mitóticas incluyen, pero no se limitan a inhibidores de KSP, inhibidores de MKLP1, inhibidores de CENP-E, inhibidores de MCAK, inhibidores de Kif4, inhibidores de Mphosph1, e inhibidores de Rab6-KIFL.

Los inhibidores de quinasas involucrados en progresión mitótica incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de aurora quinasas, inhibidores de quinasas tipo Polo (PLK) (por ejemplo, inhibidores de PLK-1), inhibidores de bub-1 e inhibidores de bub-R¹. Los agentes antiproliferativos incluyen ARN antisentido y oligonucleótidos de ADN tales como G3139, ODN698, RVASKRAS, GEM231, y INX3001, y antimetabolitos tales como enocitabina, carmofur, tegafur, pentostatina, doxifluridina, trimetrexato, fludarabina, capecitabina, galocitabina, citarabina ocfosfato, hidrato sódico de fosteabina, raltitrexed, paltitrexed, emitefur, tiatzofurina, decitabina, nolatrexed, pemetrexed, nelzarabina, 2'-desoxi-2'-metilidenecitidina, 2'-fluorometilen-2'-desoxicitidina, N-[5-(2,3-dihidro-benzofuril)sulfonil] -N'-(3,4-diclorofenil)urea, N6-[4-desoxi-4-[N2-[2(E),4(E)-tetradecadienoil]glicilamino]-L-glicero-B-L-manno-heptopiranosil]adenina, aplidina, ecteinascidina, roxacitabina, ácido 4-[2-amino-4-oxo-4,6,7,8-tetrahidro-3H-pirimidino[5,4-b][1,4]tiazin-6-il-(S)-etil] -2,5-tienoil-L-glutámico, aminopterina, 5-fluorouracilo, alanosina, éster del ácido 11-acetil-8-(carbamoiloximetil) -4-

- formil-6-metoxi-14-oxa-1,1-diazatetraciclo(7.4.1.0.0)-tetradeca-2,4,6-trien-9-il acético, swainsonina, lometrexol, dexrazoxano, metioninasa, 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-B-D-arabino furanosil citosina, y 3-aminopiridin-2-carboxaldehído tiosemicarbazona. Los ejemplos de agents terapéuticos dirigidos al anticuerpo monoclonal incluyen a aquellos agentes terapéuticos que tienen agentes citotóxicos o radioisótopos unidos a una célula cancerosa específica o anticuerpo monoclonal específico de la célula objetivo. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, Bexxar. Los inhibidores de HMG-CoA reductasa son inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. Los compuestos que tienen actividad inhibidora para HMG-CoA reductasa pueden ser fácilmente identificados por medio del uso de ensayos bien conocidos en el arte tal como aquellos descritos o citados en la patente de los Estados Unidos No. 4.231.938 y WO 84/02131. Los ejemplos de inhibidores de HMG-CoA reductasa que pueden ser utilizados incluyen, pero no se limitan a, lovastatina (MEVACOR®; ver las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.231.938, 4.294.926, y 4.319.039), simvastatina (ZOCOR®; ver las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.444.784, 4.820.850, y 4.916.239), pravastatina (PRAVACHOL®; ver las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.346.227, 4.537.859, 4.410.629, 5.030.447, y 5.180.589), fluvastatina (LESCOL®; ver las patentes de los Estados Unidos Nos. 5.354.772, 4.911.165, 4.929.437, 5.189.164, 5.118.853, 5.290.946, y 5.356.896) y atorvastatina (LIPITOR®; ver las patentes de los Estados Unidos Nos. 5.273.995, 4.681.893, 5.489.691 y 5.342.952). Las formulas estructurales de estos y de inhibidores adicionales de HMG-CoA reductasa que pueden ser utilizados en los presentes métodos están descritos en la página 87 de M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", Chemistry&Industry, páginas 85 - 89 (5 de febrero de 1996) y patentes de los Estados Unidos Nos. 4.782.084 y 4.885.314. En una modalidad, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se selecciona de lovastatina y simvastatina.
- Los inhibidores de la proteína prenil transferasa son compuestos que inhiben a cualquiera o cualquier combinación de las enzimas de la proteína prenil transferasa, incluida la proteína farnesil transferasa (FPTasa), la proteína geranil geranil transferasa tipo I (GGPTasa-I), y la proteína geranilgeranil transferasa tipo II (GGPTasa-II, también llamada Rab GGPTasa). Los ejemplos de compuestos que inhiben a la proteína prenil transferasa incluyen (6)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil] -4-(3-clorofenil) -1-metil-2(1H)-quinolinona, (-)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil] 4-(3-clorofenil) -1-metil-2(1H)-quinolinona, (+)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil -1H-imidazol-5-il)metil] -4-(3-clorofenil) -1-metil-2(1H)-quinolinona, 5(S)-n-butil-1-(2,3-dimetil fenil) -4-[1-(4-cianobencil) -5-imidazolilmetil-2-piperazinona, (S)-1-(3-clorofenil) -4-[1-(4-cianobencil) -5-imidazolilmetil] -5-[2-(etanosulfonil) metil] -2-piperazinona, 5(S)-n-butil-1-(2-metilfenil) -4-[1-(4-cianobencil) -5-imidazolilmetil] -2-piperazinona, 1-(3-clorofenil) -4-[1-(4-cianobencil) -2-metil-5-imidazolilmetil] -2-piperazinona, 1-(2-difeniletil) -3-[N-(1-(4-cianobencil) -1H-imidazol-5-iletiletil)carbamoil] piperidina, 4-{-[4-hidroxiometil-4-(4-cloropiridin-2-ilmetil) -piperidin-1-ilmetil] -2-metilimidazol-1-ilmetil}benzonitrilo, 4-{-[5-[4-hidroxiometil-4-(3-clorobencil) -piperidin-1-ilmetil] -2-metilimidazol-1-ilmetil] -benzonitrilo, 4-{3-[4-(2-oxo-2H-piridin-1-il)bencil] -3H-imidazol-4-ilmetil}benzonitrilo, 4-{3-[4-(5-cloro-2-oxo-2H-[1,2]bipiridin-5'-ilmetil] -3H-imidazol-4-il-metil} benzonitrilo, 4-{3-[4-(2-oxo-2H-[1,2]bipiridin-5'-ilmetil] -3H-imidazol-4-il-metil}benzonitrilo, 4-[3-(2-oxo-1-fenil-1,2-dihidropiridin-4-ilmetil) -3H-imidazol-4-ilmetil]benzonitrilo, 18,19-dihidro-19-oxo-5H,17H-6,10:12,16-dimeteno-1H-imidazo[4,3-c] [1,11,4]dioxazaciclo-nonadecin-9-carbonitrilo, (+)-19,20-dihidro-19-oxo-5H-18,21-etano-12,14-eteno-6,10-meteno-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k][1,6,9,12]oxatriaza-ciclooctadecin-9-carbonitrilo, 19,20-dihidro-19-oxo-5H, 17H-18,21-etano-6,10:12,16-dimeteno-22H-imidazo[3,4-h][1,8,11,14] oxatriazacicloeoicosin-9-carbonitrilo, y (+)-19,20 -dihidro-3-metil-19-oxo-5H-18,21-etano-12,14-eteno-6,10-meteno-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k][1,6,9,12] oxa-triaza ciclooctadecine-9-carbonitrilo. Otros ejemplos de inhibidores de proteína prenil transferasa pueden ser encontrados en las siguientes publicaciones y patentes: WO 96/30343, WO 97/18813, WO 97/21701, WO 97/23478, WO 97/38665, WO 98/28980, WO 98/29119, WO 95/32987, la patente de los Estados Unidos No. 5.420.245, la patente de los Estados Unidos No. 5.523.430, la patente de los Estados Unidos No. 5.532.359, la patente de los Estados Unidos No. 5.510.510, la patente de los Estados Unidos No. 5.589.485, la patente de los Estados Unidos No. 5.602.098, la publicación de la patente europea No. 0 618 221, la publicación de la patente europea No. 0 675 112, la publicación de la patente europea No. 0 604 181, la publicación de la patente europea No. 0 696 593, WO 94/19357, WO 95/08542, WO 95/11917, WO 95/12612, WO 95/12572, WO 95/10514, la patente de los Estados Unidos No. 5.661.152, WO 95/10515, WO 95/10516, WO 95/24612, WO 95/34535, WO 95/25086, WO 96/05529, WO 96/06138, WO 96/06193, WO 96/16443, WO 96/21701, WO 96/21456, WO 96/22278, WO 96/24611, WO 96/24612, WO 96/05168, WO 96/05169, WO 96/00736, la patente de los Estados Unidos No. 5.571.792, WO 96/17861, WO 96/33159, WO 96/34850, WO 96/34851, WO 96/30017, WO 96/30018, WO 96/30362, WO 96/30363, WO 96/31111, WO 96/31477, WO 96/31478, WO 96/31501, WO 97/00252, WO 97/03047, WO 97/03050, WO 97/04785, WO 97/02920, WO 97/17070, WO 97/23478, WO 97/26246, WO 97/30053, WO 97/44350, WO 98/02436, y la patente de los Estados Unidos No. 5.532.359. Para un ejemplo del papel de un inhibidor de la proteína prenil transferasa sobre angiogénesis ver European J. of Cancer 35(9): 1394 - 1401 (1999).
- Inhibidores de angiogénesis se refiere a compuestos que inhiben la formación de nuevos vasos sanguíneos, independientemente del mecanismo. Los ejemplos de inhibidores de angiogénesis incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de tirosina quinasa, tales como los inhibidores de los receptores de la tirosina quinasa Flt-1 (VEGFR1) y Flk-1/KDR (VEGFR2), los inhibidores de los factores de crecimiento derivados de la epidermis, derivados de fibroblastos, o derivados de plaquetas, inhibidores de MMP (matriz de metaloproteasa), bloqueadores de integrina, interferón-alfa, interleuquina-12, polisulfato de pentosano, inhibidores de ciclooxigenasa, incluidos antiinflamatorios no esteroideos (los NSAID) tales como aspirina y ibuprofeno así como inhibidores selectivos de ciclooxi-genasa-2 tales como celecoxib y rofecoxib (PNAS 89: 7384 (1992); JNCI 69: 475 (1982); Arch. Ophthalmol. 108: 573 (1990); Anat. Rec., (238): 68 (1994); FEBS Letters 372: 83 (1995); Clin. Orthop. 313: 76 (1995); J. Mol. Endocrinol. 16: 107

(1996); Jpn. J. Pharmacol. 75: 105 (1997); Cancer Res. 57: 1625 (1997); Cell 93: 705 (1998); Intl. J. Mol. Med. 2: 715 (1998); J. Biol. Chem. 274: 9116 (1999)), antiinflamatorios no esteroideos (tal como corticosteroides, mineralocorticoides, dexametasona, prednisona, prednisolona, metilpred, betametasona), carboxiamidotriazol, combretastatina A4, esqualamina, 6-O-cloroacetil-carbonil)-fumagilol, talidomida, angiostatina, troponina-1, antagonistas de angiotensina II (ver Fernandez et al., J. Lab. Clin. Med. 105: 141 - 145 (1985)), y anticuerpos para VEGF (ver, Nature Biotechnology, 17: 963 - 968 (Octubre 1999); Kim et al., Nature, 362: 841 - 844 (1993); WO 00/44777; y WO 00/61186). Otros agentes terapéuticos que modulan o inhiben angiogénesis y que pueden ser utilizados también en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen agentes que modulan o inhiben los sistemas de coagulación y de fibrinólisis (ver review in Clin. Chem. La. Med. 38: 679 - 692 (2000)). Los ejemplos de tales agentes que modulan o inhiben las rutas de coagulación y fibrinólisis incluyen, pero no se limitan a, heparina (ver Thromb. Haemost. 80: 10 - 23 (1998)), heparinas de bajo peso molecular e inhibidores de carboxipeptidasa U (también conocidos como inhibidores del inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina activa [TAFIa]) (ver Thrombosis Res. 101: 329 - 354 (2001)). Los inhibidores de TAFIa han sido descritos en la Publicación PCT WO 03/013.526 y U.S. Ser. No. 60/349.925 (presentada el 18 de enero de 2002). La invención también abarca combinaciones del compuestos de la invención con los NSAID que son inhibidores selectivos de COX-2 (generalmente definidos como aquellos que poseen una especificidad para inhibir COX-2 sobre COX-1 de al menos 100 veces de acuerdo a lo medido por medio de la relación de IC₅₀ para COX-2 sobre IC₅₀ para COX-1 evaluada por medio de ensayos celulares o microsomales). Tales compuestos incluyen, pero no se limitan a aquellos divulgados en la patente de los Estados Unidos No. 5.474.995, publicada el 12 de diciembre de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.861.419, publicada el 19 de enero de 1999, la patente de los Estados Unidos No. 6.001.843, publicada el 14 de diciembre de 1999, la patente de los Estados Unidos No. 6.020.343, publicada el 1 de febrero de 2000, la patente de los Estados Unidos No. 5.409.944, publicada el 25 de abril de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.436.265, publicada el 25 de julio de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.536.752, publicada el 16 de julio 1996, la patente de los Estados Unidos No. 5.550.142, publicada el 27 de agosto de 1996, la patente de los Estados Unidos No. 5.604.260, publicada el 18 de febrero de 1997, la patente de los Estados Unidos No. 5.698.584, publicada el 16 de diciembre de 1997, la patente de los Estados Unidos No. 5.710.140, publicada el 20 de enero de 1998, WO 94/15932, publicada el 21 de julio de 1994, la patente de los Estados Unidos No. 5.344.991, publicada el 6 de junio de 1994, la patente de los Estados Unidos No. 5.134.142, publicada el 28 de julio de 1992, la patente de los Estados Unidos No. 5.380.738, publicada el 10 de enero de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.393.790, publicada el 20 de febrero de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.466.823, publicada el 14 de noviembre de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.633.272, publicada el 27 de mayo de 1997, y la patente de los Estados Unidos No. 5.932.598, publicada el 3 de agosto de 1999, todas las cuales se incorporan aquí como referencia. Los inhibidores representativos de COX-2 que son útiles en los métodos de la presente invención incluyen 3-fenilo-4-(4-(metilsulfonyl)fenil)-2-(5H)-furanona; y 5-cloro-3-(4-metilsulfonyl)fenil-2-(2-metil-5-piridinil)piridina. Los compuestos que se describen como inhibidores específicos de COX-2 y que son por lo tanto útiles en la presente invención, y los métodos de síntesis de los mismos, pueden ser encontrados en las siguientes patentes, solicitudes pendientes y publicaciones, que se incorporan aquí como referencia: WO 94/15932, publicada el 21 de julio de 1994, la patente de los Estados Unidos No. 5.344.991, publicada el 6 de junio de 1994, la patente de los Estados Unidos No. 5.134.142, publicada el 28 de julio de 1992, la patente de los Estados Unidos No. 5.380.738, publicada el 10 de enero de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.393.790, publicada el 20 de febrero de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.466.823, publicada el 14 de noviembre de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.633.272, publicada el 27 de mayo de 1997, la patente de los Estados Unidos No. 5.932.598, publicada el 3 de agosto de 1999, la patente de los Estados Unidos No. 5.474.995, publicada el 12 de diciembre de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.861.419, publicada el 19 de enero de 1999, la patente de los Estados Unidos No. 6.001.843, publicada el 14 de diciembre de 1999, la patente de los Estados Unidos No. 6.020.343, publicada el 1 de febrero de 2000, la patente de los Estados Unidos No. 5.409.944, publicada el 25 de abril de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.436.265, publicada el 25 de julio de 1995, la patente de los Estados Unidos No. 5.536.752, publicada el 16 de julio de 1996, la patente de los Estados Unidos No. 5.550.142, publicada el 27 de agosto de 1996, la patente de los Estados Unidos No. 5.604.260, publicada el 18 de febrero de 1997, la patente de los Estados Unidos No. 5.698.584, publicada el 16 de diciembre de 1997, y la patente de los Estados Unidos No. 5.710.140, publicada el 20 de enero de 1998. Otros ejemplos de inhibidores de angiogénesis incluyen, pero no se limitan a, endostatina, ukraína, ranpirnasa, IM862, 5-metoxi-4-[2-metil-3-(3-metil-2-butenil)oxiranil]-1-oxaespíro[2,5]oct-6-il-(cloroacetil)carbamato, acetildinanalina, 5-amino-1-[[3,5-dicloro-4-(4-clorobenzoil) fenil] metil]-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida, CM101, escualamina, combretastatina, RPI4610, NX31838, fosfato de manopentaosa sulfatada, 7,7-(carbonil-bis[imino-N-metil-4,2-pirrolocarbonilimino[N-metil-4,2-pirrol]-carbonilimino]-bis-(1,3-naftaleno disulfonato), y 3-[(2,4-dimetilpirrol-5-il)metilen]-2-indolinona (SU5416).

Los agentes que interfieren con puntos de control del ciclo celular son compuestos que inhiben a las proteína quinasas que transducen las señales del punto de control del ciclo celular, sensibilizando por lo tanto a las células cancerosas a los agentes que dañan el ADN. Tales agentes incluyen inhibidores de ATR, ATM, las Chk1 y Chk2 quinasas y los inhibidores de cdk y cdc quinasas y son ejemplificadas específicamente por 7-hidroxiestaurosporina, flavopiridol, CYC202 (Cyclacel) y BMS-387032.

Los inhibidores de proliferación celular y la ruta de señalización de supervivencia son agentes farmacéuticos que inhiben a los receptores de la superficie de la célula y las cascadas de transducción de señal secuencia abajo de

5 aquellos receptores de superficie. Tales agentes incluyen inhibidores de EGFR (por ejemplo gefitinib y erlotinib), inhibidores de ERB-2 (por ejemplo trastuzumab), inhibidores de IGFR, inhibidores de receptores de citoquina, inhibidores de MET, inhibidores de PI3K (por ejemplo LY294002), serina/treonina quinasa (incluyendo pero sin limitarse a inhibidores de Akt tal como se describe en WO 02/083064, WO 02/083139, WO 02/083140 y WO 02/083138), inhibidores de la quinasa Raf (por ejemplo BAY-43-9006), inhibidores de MEK (por ejemplo CI-1040 y PD-098059) e inhibidores de mTOR (por ejemplo Wyeth CCI-779). Tales agentes incluyen compuestos inhibidores de molécula pequeña y antagonistas de anticuerpos.

Los agentes que inducen apoptosis incluyen activadores de miembros de la familia del receptor del TNF (incluyendo los receptores TRAIL).

10 En ciertas modalidades actualmente preferidas de la invención, agentes representativos útiles en combinación con los compuestos de la invención para el tratamiento de cáncer incluyen, por ejemplo, irinotecano, topotecano, gemcitabina, 5-fluorouracilo, leucovorin carboplatino, cisplatino, taxanos, tezacitabina, ciclofosfamida, alcaloides vinca, imatinib (Gleevec), antraciclinas, rituximab, trastuzumab, así como otros agentes quimioterapéuticos para el cáncer.

15 Los compuestos anteriores que son empleados en combinación con los compuestos de la invención serán usados en cantidades terapéuticas como se indica en la Physicians' Desk Reference (PDR) 47th Edition (1993), o tales cantidades terapéuticamente útiles serían conocidas por alguien ordinariamente capacitado en el arte.

20 Los compuestos de la invención y los otros agentes anticancerígenos pueden ser administrados en la dosis clínica máxima recomendada o en dosis menores. Los niveles de las dosis de los compuestos activos en las composiciones de la invención pueden ser variados para obtener una respuesta terapéutica deseada dependiendo de la ruta de administración, de la severidad de la enfermedad y de la respuesta del paciente. La combinación puede ser administrada como composiciones separadas o como una forma de dosificación única que contiene ambos agentes. Cuando se administra como una combinación, los agentes terapéuticos pueden ser formulados como composiciones separadas, que se administran al mismo tiempo o en diferentes momentos, o los agentes terapéuticos, se pueden 25 administrar como una composición única.

30 Antiestrógenos, tales como tamoxifeno, inhiben el crecimiento del cáncer de mama a través de la inducción de la detención del ciclo celular, que requiere de la acción del inhibidor del ciclo celular p27Kip. Recientemente, se ha demostrado que la activación de la ruta Ras-Raf-MAP Quinasa altera el estado de fosforilación de p27Kip de tal manera que su actividad inhibidora para detener el ciclo celular se atenúa, contribuyendo así a la resistencia antiestrogénica (Donovan et al., J. Biol. Chem. 276: 40888, 2001). Como lo reportan Donovan et al., la inhibición de la señalización de MAPK a través del tratamiento con el inhibidor de MEK cambió el estado de fosforilación de p27 en líneas de células de cáncer de mama refractarias a la hormona y al hacerlo restablecieron la sensibilidad a la hormona. Por lo tanto, en un aspecto, cualquiera de las modalidades de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero 35 del mismo pueden ser utilizados en el tratamiento de cánceres que dependen de la hormona, tal como cánceres de mama y de próstata, para revertir la resistencia a la hormona comúnmente observada en estos cánceres con agentes anticancerígenos convencionales.

40 En cánceres hematológicos, tales como leucemia mielógena crónica (CML), la translocación cromosómica es la responsable por la tirosina quinasa BCR-AB1 constitutivamente activada. Los pacientes afectados son sensibles a Gleevec, un inhibidor de tirosina quinasa de molécula pequeña, como resultado de la inhibición de la actividad de la Ab1 Quinasa. Sin embargo, muchos pacientes con enfermedad en etapa avanzada responden inicialmente a Gleevec, pero posteriormente recaen debido a mutaciones que confieren resistencia en el dominio de la Ab1 quinasa. Estudios *in vitro* han demostrado que BCR-Av1 emplea la ruta de la quinasa Raf para provocar su efecto. Además, la inhibición de más de una quinasa en la misma ruta provoca una protección adicional contra las 45 mutaciones que confieren resistencia. Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, cualquiera de las modalidades de compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo son utilizados en combinación con al menos un agente adicional, tal como Gleevec, en el tratamiento de cánceres hematológicos, tal como leucemia mielógena crónica (CML), para revertir o evitar la resistencia a al menos un agente adicional.

50 En otro aspecto, la presente invención se relaciona con al menos un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo efectivos para inhibir la actividad de al menos una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en un individuo para uso en un método para inhibir al menos a una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en el individuo, o el tratamiento de una condición biológica mediada por una serina/treonina 55 quinasa en la ruta de señalización de MAPK en el individuo, que comprende la administración de una composición terapéutica que contiene al menos un compuesto de un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Las composiciones terapéuticas de acuerdo con este aspecto de la invención son útiles para el tratamiento de pacientes que requieran de tales inhibidores (por ejemplo, aquellos que sufren de cáncer mediado por señalización anormal de MAPK). Los tipos de cánceres mediados por señalización anormal de MAPK incluyen, por ejemplo, melanoma, cáncer papilar, cáncer de tiroides, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer pancreático, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), leucemia linfoblástica aguda (ALL), y leucemia mieloide aguda. La señalización anormal de MAPK puede ser inhibida por medio de la administración de un compuesto que inhiba formas mutantes o de tipo silvestre de Ras, Raf, MEK o ERK.

10 En una modalidad, la invención provee un compuesto de cualquiera de las modalidades de compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo para uso en un método para inhibir Ras (Ras mutante o del tipo silvestre), incluyendo el método la administración de una cantidad efectiva del compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo a un individuo que requiera el mismo.

15 En una modalidad, la invención provee cualquiera de las modalidades de compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo para uso en un método de inhibición de MEK.

El método incluye la administración de una cantidad efectiva de cualquiera de las modalidades de compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo a un individuo que requiera de los mismos.

20 En una modalidad, la invención provee cualquiera de las modalidades de compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo para uso en un método de inhibición de ERK. El método incluye la administración de una cantidad efectiva de cualquiera de las modalidades de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), o (IV) o a tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo a un individuo que requiera de los mismos.

25 Un ejemplo de un compuesto de este aspecto de la invención para uso en los métodos, 1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina, exhibió una potente inhibición de la ruta de señalización de MAPK, como se describe más adelante en los Ejemplos 82 - 86 y 89 - 90 y mostrado en las FIGURAS 6 - 12B; 14AC y 15. El compuesto es un potente inhibidor de B-Raf, c-Raf, B-Raf mutante y Ras mutante en ensayos bioquímicos, como se muestra en el Ejemplo 82, demostrando inhibición de la actividad de B-Raf mutante (IC_{50} de 0,0053 μ M), inhibición de la actividad de B-Raf (IC_{50} de 0,068 μ M) e inhibición de la actividad de c-Raf (IC_{50} de 0,004 μ M). El tratamiento con el compuesto provocó la regresión del tumor en todos los tres modelos de xenoinjerto mutante de B-Raf (A375M, MEXF276 y HT29) analizados, y la inhibición del crecimiento del tumor en modelos de xenoinjerto conducidos por K-Ras y N-Ras como se resume más adelante en la Tabla 7, y se describe en los Ejemplos 84, 85, y 86.

35 El análisis de la modulación objetivo en células tumorales A375M, MEXF276 y HCT-116 después del tratamiento con {1-Metil- 5- [2- (5- trifluorometil-1H- imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi] -1H- benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina indicó que la fosforilación de MEK se inhibió en una forma dependiente del tiempo y de la dosis, como se muestra en las FIGURAS 7B, 8B y 10C. Además, el tratamiento de las células tumorales A375M, MEXF276 y HCT-116 con los marcadores modulados por el compuesto secuencia abajo de Raf, incluidos BIM, Ciclina D1, p27Kip y pAKT como se muestra en las FIGURAS 7D, 8C y 9C. Estos ensayos en modelos preclínicos indican que {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina mostró una inhibición que depende del tiempo y de la dosis tanto de la fosforilación objetivo de MEK como de las moléculas de señalización secuencia abajo de Raf en la ruta de MAPK.

45 En otro aspecto, la presente invención se relacionan con al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de fórmula (I), (II), (III), o (IV) efectivo para inhibir al receptor de tirosina quinasa en un individuo para uso en un método para inhibir al menos un receptor de tirosina quinasa seleccionado del grupo que consiste de VEGFR-2, PDGFR- β , pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit y CSF-1R en un individuo, o el tratamiento de una condición biológica mediada por al menos uno de VEGFR-2, PDGFR- β , pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit y CSF-1R, que comprende la administración de una composición terapéutica que contiene al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

50 Los compuestos terapéuticos de acuerdo con este aspecto de la invención son útiles para el tratamiento de pacientes que requieran de tales inhibidores (por ejemplo, aquellos que sufren de cáncer mediado por señalización del receptor anormal de tirosina quinasa). Los cánceres mediados por señalización del receptor anormal de tirosina quinasa incluyen, por ejemplo, melanoma, cáncer de mama, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, cáncer tiroideo, 55 cáncer de próstata, cáncer de ovario, leucemia de mastocitos, tumores de células germinales, carcinoma de pulmón

de células pequeñas, tumores estromales gastrointestinales, leucemia mielógena aguda (AML), neuroblastoma, y cáncer pancreático.

5 En una modalidad, la invención provee un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de cualquiera de las modalidades de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método de inhibición de VEGFR-2. El método incluye la administración de una cantidad efectiva del compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un individuo que requiera del mismo. El método puede ser útil para tratar un tumor sólido por medio de la inhibición de la angiogénesis.

10 En una modalidad, la invención provee un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de cualquiera de las modalidades de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método de inhibición de PDGFR- β . El método incluye la administración de una cantidad efectiva del compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un individuo que requiera del mismo.

15 En una modalidad, la invención provee un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de cualquiera de las modalidades de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método de inhibición de c-Kit. El método incluye la administración de una cantidad efectiva del compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un individuo que requiera del mismo.

En una modalidad, la invención provee un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de cualquiera de las modalidades de fórmula (I), (II), (III), o (IV) para uso en un método de inhibición de CSF-1R. El método incluye la administración de una cantidad efectiva del compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un individuo que requiera del mismo.

20 Un ejemplo de un compuesto de este aspecto de la invención para uso de los métodos, {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina, es un potente inhibidor de los receptores de tirosina quinasa VEGFR-2, PDGFR- β , pERK, bFGF, FGFR1, FGFR2, FGFR3, c-Kit y CSF-1R en un ensayo bioquímico. El compuesto demuestra la inhibición de la actividad de VEGFR-2 (IC_{50} de 0,07 μ M), la inhibición de PDGFR- β (IC_{50} de 0,0032 μ M), la inhibición de c-Kit (IC_{50} de 0,02 μ M), y la inhibición de CSF-1R (IC_{50} de 0,20 μ M), como se describe en el Ejemplo 87. Además, el compuesto indujo la inhibición de angiogénesis en un modelo de matrigel *in vivo*, como se muestra en la FIGURA 13 y se describe en el Ejemplo 88.

La presente invención será entendida más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos, que se suministran a manera de ilustración y no pretenden constituirse en limitante de la presente invención.

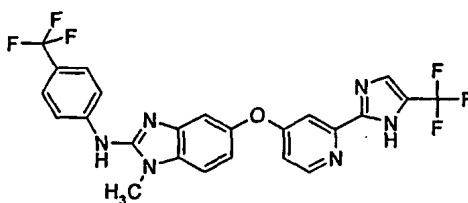
30 En los Ejemplos que se presentan más abajo así como a través de toda la solicitud, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si no se definen, los términos tienen los significados generalmente aceptados.

APCI	espectroscopía de masas de ionización química a presión atmosférica
aq.	Acuoso
atm	Atmósfera
cm	Centímetro
35 °C	Grados Celsius
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMC	Cloruro de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolinio
DMSO	Dimetilsulfóxido
eq.	Equivalente
40 EtOAc	Acetato de Etilo
EtOH	Etanol
g o gm	Gramo(s)

	h/hr/hrs	Hora(s)
	HPLC	Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento
	IPA	Isopropil alcohol
	L	Litro
5	LCAP	Porcentaje del Área de Cromatografía Líquida
	LC/MS	Espectroscopía de masas de cromatografía líquida
	M	Molar
	MeCN	Acetonitrilo
	mL	Mililitros
10	NaOMe	Metóxido de Sodio
	1-PrOH	1-Propanol
	TEA	Trietilamina
	TFAA	Anhídrido trifluoroacético
	THF	Tetrahidrofurano
15	Las cadenas laterales representativas para uso en los compuestos de los siguientes ejemplos pueden en general ser preparadas de acuerdo con los siguientes procedimientos:	

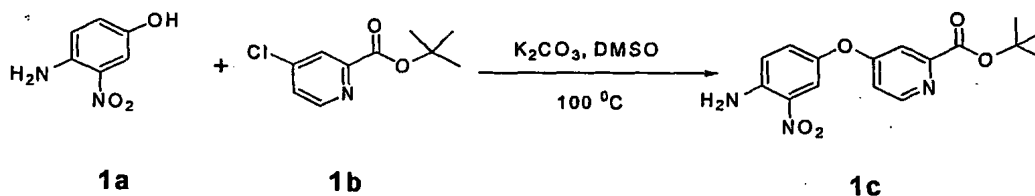
Ejemplo 1

Preparación de {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluoro metil-fenil) -amina



20

Etapa 1

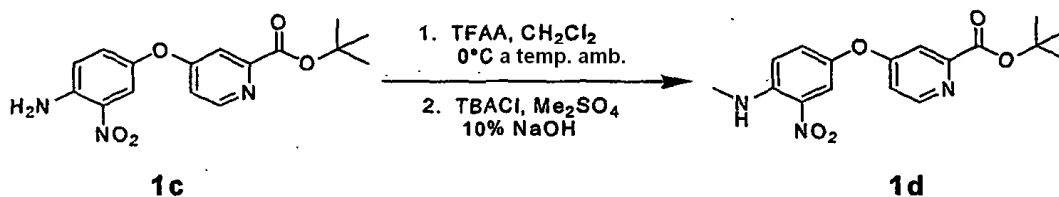


25

Se acopló un matraz de tres bocas de 500 mL con un agitador mecánico y se lo cargó con K_2CO_3 (4,15 g, 30 mmol). Se selló el recipiente, evacuó, y se secó a la llama. No se permitió el enfriamiento del aparato a temperatura ambiente y purgó con argón. Al matraz de reacción se le añadió 4-amino-3-nitrofenol **1a** (3,08 g, 20 mmol), *tert*-butil 4-cloropiridin-2- carboxilato **1b** (5,2 g, 24 mmol) y DMSO seco (30 mL). Se agitó vigorosamente la mezcla resultante y calentó a 100°C durante ~14 h. Se vertió la reacción sobre amortiguador de fosfatos congelado (pH = 7) y se enjuagó bien el matraz de reacción con MTBE (metil tert butil éter) y agua. Se filtró la mezcla bifásica combinada a

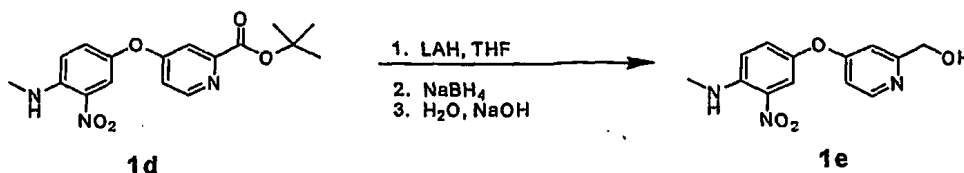
través de Celite (almohadilla >2 cm). Las capas fueron repartidas y separadas y se extrajo la fase acuosa con MTBE (3 X 100 mL). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (5 X 100 mL), se secó (MgSO₄), y evaporó. Se absorbió el residuo crudo sobre SiO₂, y purificó por medio de cromatografía instantánea (4:1, 2:1, 1:1 hexanos-EtOAc (acetato de etilo)) para producir 4,92 g (14.9 mmol, rendimiento del 74%) de **1c** como un sólido de color amarillo marrón. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,58 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 2.8, 8.8 Hz, 1H), 6.94 (dd, *J* = 2.8, 5.8, Hz, 1H), .91 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 6.15 (br s, 2H), 1.62 (s, 9H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 165,8, 164.0, 151.8, 151.5, 43.4, 143.2, 131.5, 129.8, 121.0, 118.0, 114.2, 113.1, 83.0, 28.4; p. f. 163 - 166 °C.

Etapa 2



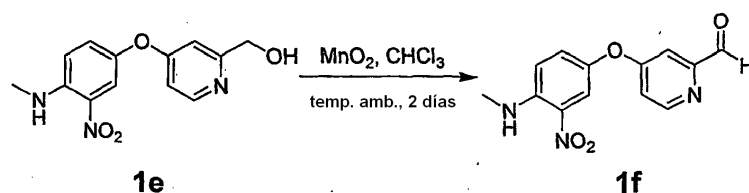
A una solución de la nitroanilina **1c** (5,62 g, 17 mmol) en CH₂Cl₂ (85 mL) a 0°C se le añadió TFAA (2,4 mL, 3,6 g, 17 mmol). Se removió luego el baño de enfriamiento y se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 2 h. Se enfrió la reacción a 0°C y se añadieron TBACl (cloruro de tetrabutilamonio, 2,5 g, 8,5 mmol), Me₂SO₄ (dimetilsulfato 3,2 mL, 4,3 g 34 mmol), y NaOH al 10% (34 mL). Se agitó vigorosamente la mezcla resultante durante 4 h a temperatura ambiente. Se diluyó la reacción con agua y se repartieron y separaron las capas resultantes. Se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ (3 X 100 mL), y se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera (2 X 100 mL), se secaron (MgSO₄), y evaporó. Se adsorbió el residuo crudo sobre gel de sílice y purificó por medio de cromatografía instantánea (4:1, 2:1, 1:1, 1:2 hexanos/EtOAc) para producir 4,5 g (13,0 mmol, 76%) de **1d** como un sólido de color Amarillo - anaranjado. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,54 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 8.04 (br d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.25 (app dd, *J* = 2.8, 9.1 Hz, 1H), 6.91 (m, 2H), 3.04 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H), 1.59 (s, 9H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 165,9, 164.1, 151.5, 144.7, 142.1, 130.4, 118.8, 115.5, 114.1, 112.9, 82.9, 30.4, 28.5; p. f. 187 - 189°C.

Etapa 3



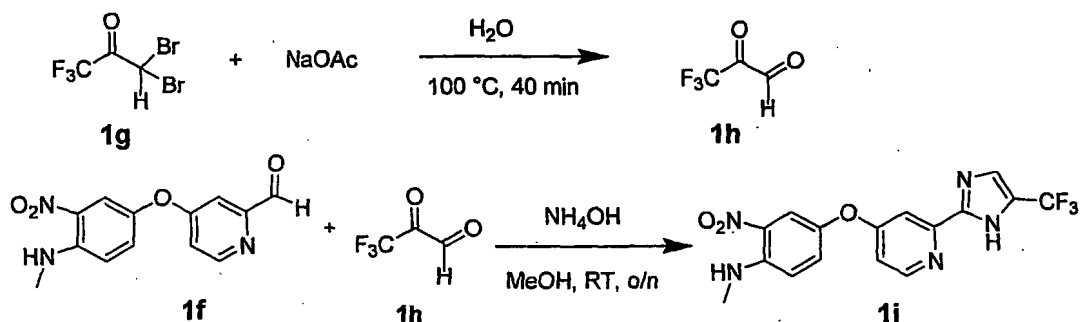
Se cargó un matraz fondo redondo de tres bocas de 500 mL secado a la llama y purgado con N₂ con LAH (hidruro de litio y aluminio, 3.0 g, 75 mmol) y THF seco (240 mL). Se enfrió la suspensión resultante a 0°C y se añadió lentamente t-butil éster **1d** (20,7 g, 60 mmol) mientras se mantenía la temperatura interna de reacción por debajo de 5°C. Se agitó luego la mezcla de reacción a 0°C durante 2 h seguido de agitación a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió NaBH₄ (2,27 g, 60 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante una hora adicional a temperatura ambiente. Después de juzgar como completa la reacción, se trató la mezcla de reacción con la adición sucesiva gota a gota de agua (3 mL), NaOH al 15% (3 mL), y agua (9 mL). Se filtró la mezcla resultante a través de Celite, y se lavaron los sólidos restantes con EtOAc y metanol. Las porciones orgánicas combinadas fueron evaporadas y el residuo crudo resultante fue adsorbido sobre SiO₂ y purificado por medio de cromatografía instantánea (97 : 3 CH₂Cl₂-MeOH) para producir 7,63 g (27.7 mmol, 46%) de un sólido de color rojo - anaranjado como **1e**. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,40 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 8.05 (br s, 1H), 7.96 (d, *J* = 2.75 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 2.75 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 9.35 Hz, 1H), 6.75 (m, 2H), 4.68 (s, 2H), 3.07 (d, *J* = 5.23 Hz, 3H).

Etapa 4



Se cargó un matraz fondo redondo de 100 mL con bencil alcohol **1e** (1,38 g, 5,0 mmol), MnO₂ (6,52 g, 75 mmol) y CHCl₃ (20 mL). Se agitó la suspensión resultante a temperatura ambiente (rt) durante 2 días. Se filtró la mezcla de reacción a través de Celite, y se lavaron los sólidos restantes sucesivamente con CHCl₃ y EtOH. Se evaporaron las porciones orgánicas combinadas, se adsorbieron sobre gel de sílice, y se purificaron por medio de cromatografía instantánea (98: 2 CH₂Cl₂/MeOH) para producir 790 mg (2,89 mmol, 58%) de un sólido de color anaranjado como **1f**. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 10.01 (s, 1 H), 8.64 (d, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 8.09 (br s, 1 H), 7.96 (d, *J* = 2.75 Hz, 1 H), 7.37 (d, *J* = 2.48 Hz, 1 H), 7.29 (d, *J* = 2.75 Hz, 1 H), 7.08 (dd, *J* = 2.47, 5.5 Hz, 1 H), 6.94 (d, *J* = 9.35 Hz, 1 H), 3.08 (d, *J* = 5.23 Hz, 3 H).

Etapa 5



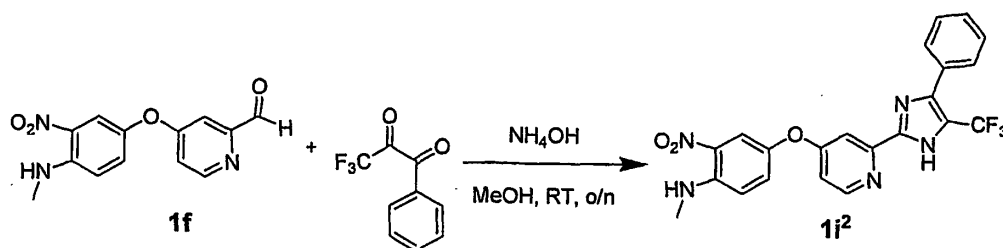
10

Formación del anillo de imidazol (Baldwin, J. J.; Engelhardt, E. L.; Hirschmann, R.; Lundell, G. F.; Ponticello, G. S. J. Med. Chem 1979, 22, 687): Se añadió el compuesto **1g** (Lancaster (Windham, NH), 25,75 mL, 136,5 mmol) a una solución de NaOAc (22,4 g, 273 mmol) en H₂O (60 mL) y se calentó la solución resultante a 100 °C durante 40 min. Después de enfriar hasta temperatura ambiente (temperatura ambiente), se añadió la solución de **1h** a una suspensión de **1f** (25 g, 91 mmol) en NH₄OH (150 mL) y metanol (450 mL). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (cromatografía en capa delgada, 95:5 CH₂Cl₂/MeOH) mostró el consumo completo de **1f**. Se concentró el producto crudo en una suspensión acuosa, y se dividió con Na₂CO₃ saturado y CH₂Cl₂. Se extrajo la fase acuosa tres veces con CH₂Cl₂, y se lavaron los orgánicos combinados con salmuera, luego se los secó (MgSO₄), y concentró para producir 31,6 g de **1i** (83 mmol) como un sólido de color anaranjado (rendimiento del 91 %). No se requirió de una purificación adicional.

15

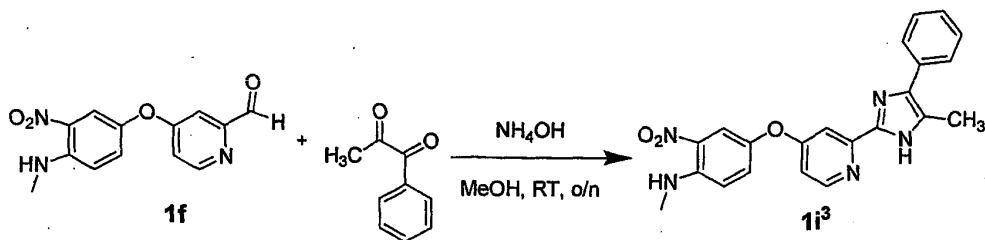
20

Otros intermediarios para preparar imidazoles sustituidos pueden ser preparados en una forma similar. Por ejemplo, el intermediario **1i²** fue sintetizado de acuerdo con la etapa 5 utilizando 3,3-trifluoro-1-fenilpropano-1,2-diona dihidratada en vez de **1h** como se muestra a continuación (MeOH = metanol, RT = temperatura ambiente, o/n = durante la noche, min = minutos):

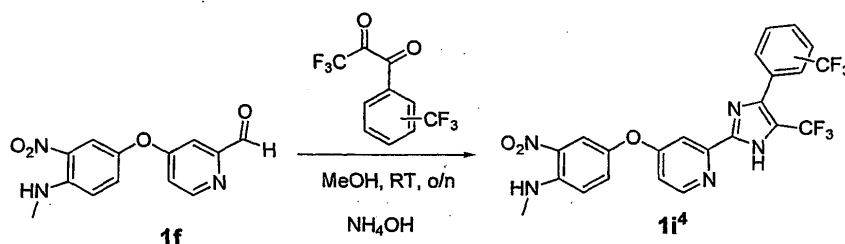


25

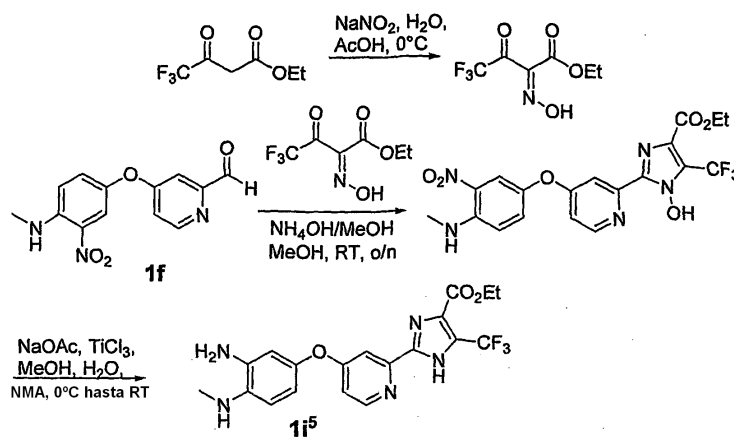
El intermediario **1i³** fue sintetizado de acuerdo con la etapa 5 utilizando 1-fenil-1,2-propanodiona en vez de **1h** como se muestra a continuación:



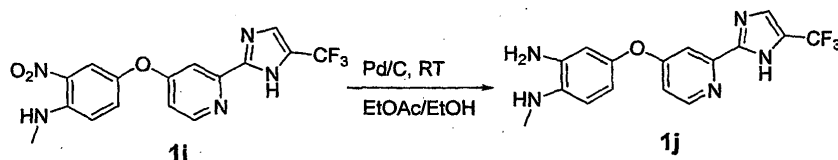
El intermediario **1i⁴** fue sintetizado de acuerdo con la etapa 5 utilizando 1-(3-trifluorometilfenil)-1,2-propanodiona o 1-(4-trifluorometilfenil)-1,2-propanodiona en vez de **1h** como se muestra a continuación:



- 5 El intermediario **1i⁵** fue sintetizado de acuerdo con la etapa 5, junto con los procedimientos en la patente de los Estados Unidos No. 5.374.615, utilizando etilo (2Z)-4,4,4-trifluoro-2-(hidroxiimino)-3-oxobutanoato elaborado a partir de etilo 4,4,4-trifluoro-3-oxobutanoato en vez de **1h** como se muestra a continuación (NMA = N-metil acetamida):



Etapa 6

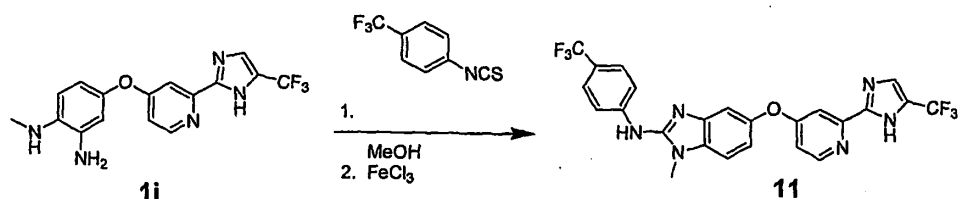


10

Se roció una suspensión de nitroanilina **1i** (45,76 g, 120 mmol) en MeOH (220 mL) y EtOAc (200 mL) con N₂ durante 20 min, y luego se la cargó con una suspensión de Pd/C al 10% (12,77 g, 120 mmol) en MeOH (60 mL). Se purgó la reacción con H₂ y se la mantuvo bajo una atmósfera de H₂ durante 2 días. Se filtró la reacción a través de una almohadilla de Celite y se lavaron los sólidos recolectados sucesivamente con MeOH y EtOAc. Se evaporaron los filtrados orgánicos combinados, se formó un azeótropo con el sólido resultante con CH₂Cl₂ y luego se los secó durante la noche al vacío para producir 40,17 g (115 mmol) de **1j** como un polvo color canela (rendimiento del 96%). LC/MS *m/z* 336.1 (MH⁺), *t_R* = 1,81 min.

15

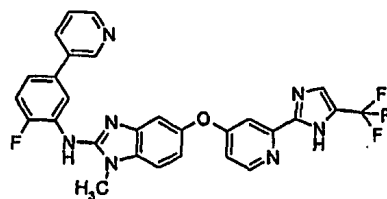
Etapa 7



Se añadió 4-trifluorometilfenil isotiocianato (23,37 g, 115 mmol) a una solución con agitación de diamina **1j** (40,17 g, 115 mmol) en MeOH (460 mL) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 h. Después de juzgar que se completó la reacción, se añadió una solución de FeCl₃ (20,52 g, 126,5 mmol) en MeOH (50 mL) a la reacción y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió la mezcla cruda de reacción a un embudo de separación de 3 L que contenía EtOAc (750 mL) y agua (750 mL). Se separaron las capas, y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (fase acuosa recuperada). Se combinaron las capas orgánicas, se las lavó con una solución acuosa saturada de Na₂CO₃, agua, y salmuera, luego se secó (MgSO₄), y concentró. Se tornó básica la fase acuosa recuperada (pH = 10) por medio de la adición de una solución acuosa saturada de Na₂CO₃ y se añadió la suspensión resultante a un embudo de separación de 3 L que contenía EtOAc (500 mL). Se agitó la mezcla y se filtró la emulsión resultante a través de papel de filtro, y se separaron luego las capas y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (2 x 500 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se las lavó con salmuera, luego se las secó (MgSO₄), se la añadió al material previamente extraído y concentró. Se trituro el producto combinado con CH₂Cl₂ (500 mL), se lo adsorbió sobre SiO₂ y purificó por medio de cromatografía instantánea. Una trituración final de material con CH₂Cl₂ produjo {1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il}-(4-trifluorometil-fenil)-amina como un sólido puro de color blanco. LC/MS *m/z* 519.1 (MH⁺); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,44(d, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 7.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.61 (dd, *J* = 2.2, 8.5 Hz, 1 H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 7.56 (d, *J* = 2.5 Hz, 1 H), 7.38 (app d, *J* = 8.5 Hz, 1 H), 7.23 (d, *J* = 1.9 Hz, 1 H), 6.96 (dd, *J* = 2.2, 8.5 Hz, 1 H), 6.93 (dd, *J* = 2.5, 5.5 Hz, 1 H), 3.76 (s, 3 H); LC/MS *m/z* = 519.0, *t_R* = 2.57 min (MH⁺); Calculado analíticamente para C₂₄H₁₆F₆N₆O: C 55.6, H 3.11, N 16.21; Encontrado: C 55.81, H 3.43, N 16.42; p. f.: 217 - 220°C.

Ejemplo 2

Preparación de (2-Fluoro-5-piridin-3-il-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina

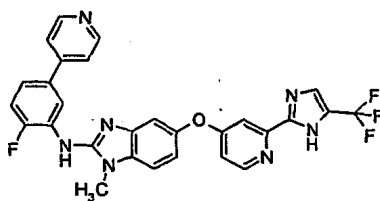


25

Se sintetizó (2-fluoro-5-piridin-3-il-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 3-(4-Fluoro-3-isotiocianatofenil) -piridina. LC/MS *m/z* 546.1 (MH⁺), *R_t* 1.82 min.

Ejemplo 3

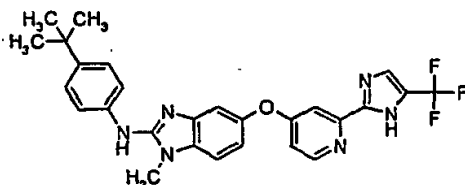
30 Preparación de (2-Fluoro-5-piridin-4-il-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina



Se sintetizó (2-fluoro-5-piridin-4-il-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-(4-Fluoro-3-isotiocianatofenil) -piridina. LC/MS m/z 546.5 (MH^+), R_t 1.83 min.

5 Ejemplo 4

Preparación de (4-*tert*-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina

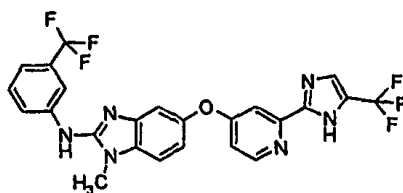


10 Se sintetizó (4-*tert*-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-*tert*-butil-fenil-isotiocianato. LC/MS

m/z 425.4 (MH^+), R_t 2.56 min.

Ejemplo 5

Preparación de {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil-fenil) -amina

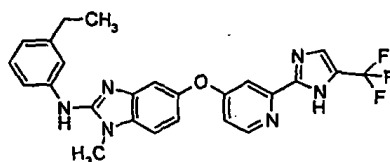


15

Se sintetizó {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil fenil) -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 3-(trifluorometil) fenil-isotiocianato. LC/MS m/z 519.4 (MH^+), R_t 2.36 min.

Ejemplo 6

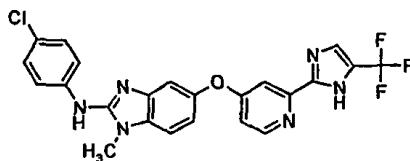
20 Preparación de (3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina



Se sintetizó (3- Etil- fenil) - {1-metil-5-[2- (5- trifluorometil-1H-imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]-1H-benzoimidazol-2- il} - amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 3-etil-fenil-isotiocianato. LC/MS m/z 479.4 (MH^+), R_t 2.32 min.

5 Ejemplo 7

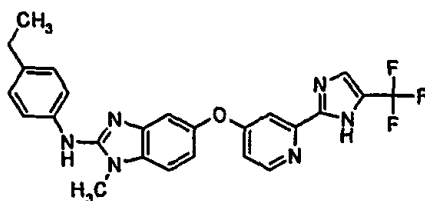
Preparación de (4-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} - amina



10 Se sintetizó (4-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} - amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-clorofenilisotiocianato. LC/MS m/z 485.4 (MH^+), R_t 2.23 min.

Ejemplo 8

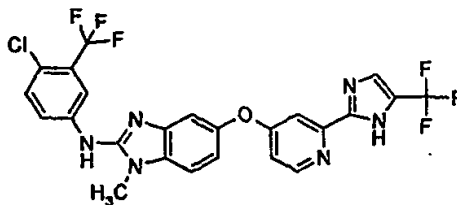
Preparación de (4-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} - amina



15 Se sintetizó (4- Etil- fenil) - {1-metil-5-[2- (5- trifluorometil-1H-imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]-1H-benzoimidazol-2- il} - amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-etilfenilisotiocianato. LC/MS m/z 479.5 (MH^+), R_t 2.31 min.

Ejemplo 9

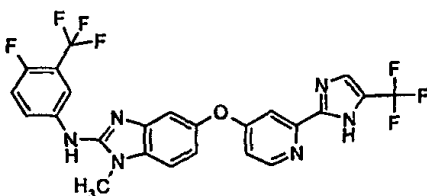
20 Preparación de (4-Cloro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina



Se sintetizó (4-Cloro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-cloro-3-(trifluorometil) fenilisotiocianato. LC/ MS m/z 553.4 (MH^+), R_t 2.51 min.

5 Ejemplo 10

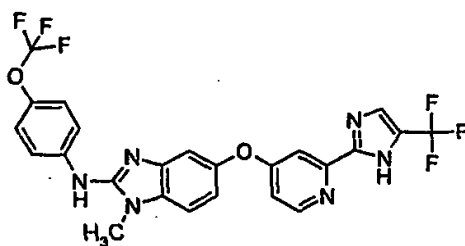
Preparación de (4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina



10 Se sintetizó (4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-fluor-3-(trifluorometil) fenilisotiocianato. LC/MS m/z 537.4 (MH^+), R_t 2.40 min.

Ejemplo 11

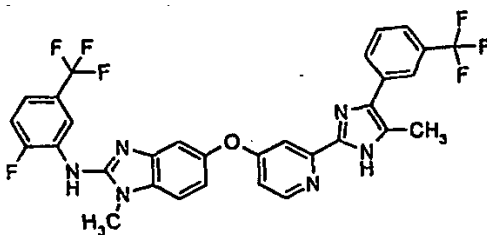
Preparación de {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluoro metoxi -fenil) -amina



15 Se sintetizó {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometoxi-fenil) -amina como se describió anteriormente en la Etapa 7 del Ejemplo 1 utilizando 4-(trifluorometoxi) fenilisotiocianato. LC/MS m/z 535.4 (MH^+), R_t 2.24 min.

Ejemplo 12

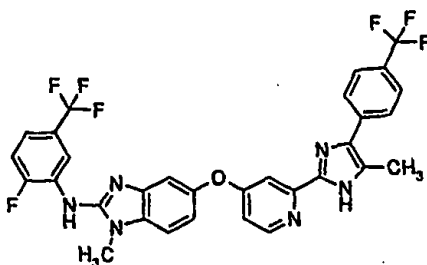
20 Preparación de (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2-[5-metil-4-(3-trifluorometil-fenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina



Se sintetizó (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-{2-[5-metil-4-(3-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] - piridin -4-iloxi}-1H-benzoimidazol-2-il) -amina utilizando procedimientos similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 1 utilizando 2-Fluoro-5-(trifluorometil)fenil isotiocianato. LC/MS m/z 627.5 (MH^+), R_t 2.79 min.

5 Ejemplo 13

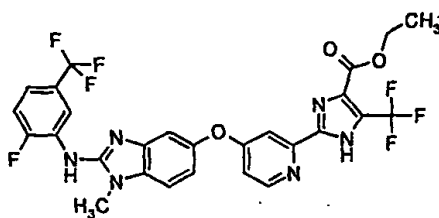
Preparación de (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-{2-[5-metil-4-(4-trifluorometil-fenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi}-1H-benzoimidazol-2-il) -amina



10 Se sintetizó (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-{2-[5-metil-4-(4-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi}-1H-benzoimidazol-2-il) -amina utilizando procedimientos similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 1 utilizando 2-Fluoro-5-(trifluorometil)fenil isotiocianato. LC/MS m/z 627.5 (MH^+), R_t 2.79 min.

Ejemplo 14

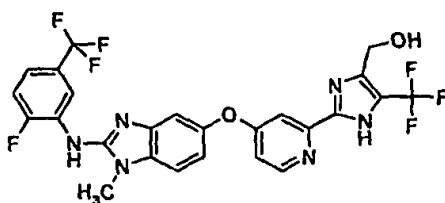
Preparación del éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico



15 Se sintetizó éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluoro metil-1H-imidazol-4-carboxílico utilizando procedimientos similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 1 utilizando 2-Fluoro-5-(trifluorometil)fenil isotiocianato. LC/MS m/z 609.5 (MH^+).

Ejemplo 15

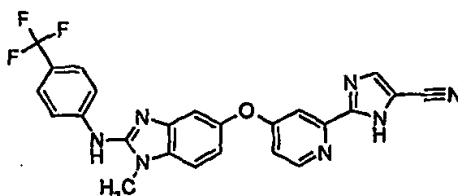
20 Preparación de (2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluoro metil-1H-imidazol-4-il) -metanol



- 5 Se añadió gota a gota Al Rojo (hidruro de bis(2-metoxietoxi)aluminio sódico, 65% en peso en tolueno, 0,1 mL) a una solución de éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-fluor-5-trifluorometilfenilamino)-1-metil-1H-benzimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico (0,0104 g, 0,017 mmol) en tolueno. Se observó efervescencia y después de 20 min, se detuvo la reacción con H₂O, NaOH y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con H₂O, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró para producir 5,9 mg de (2-{4-[2-(2-fluor-5-trifluorometilfenilamino)-1-metil-1H-benzimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-il) - etanol crudo que fue posteriormente purificado por medio de RP HPLC (HPLC en fase inversa) para producir 1,1 mg del compuesto puro (98% de pureza). LC/MS *m/z* 567.1 (MH⁺), R_t 2.40 min.

10 Ejemplo 16

Preparación de 2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo



- 15 Se preparó una suspensión {1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina de acuerdo con el Ejemplo 1 (1,83 g, 3.4 mmol) y NH₄OH al 28% (23 mL) en MeOH (10 mL), se la selló en un tubo y calentó a 140°C durante 3 h. Después de juzgar que la reacción se completó por medio de LC/MS, se añadió la mezcla de reacción cruda a un embudo de separación y se la dividió con EtOAc (50) y agua (50 mL). Se separaron las capas, y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (2 x 50 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se lavó con salmuera, luego se secó (MgSO₄), y concentró. Se adsorbió el producto crudo sobre SiO₂ y purificó por medio de cromatografía instantánea para producir 2-{4-[1-metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo como un sólido de color blanco. LC/MS *m/z* 476.1 (MH⁺).

Ejemplos 17 - 59a

- 25 Los compuestos mostrados en la siguiente Tabla 1 (Ejemplos 17 - 59a) fueron preparados a partir de los procedimientos descritos por los Ejemplos 1 - 16. Diferentes materiales de partida utilizados en la síntesis de los compuestos serán evidentes para alguien capacitado en el arte (por ejemplo Tordeux, M.; Langlois, B.; Wakselman, C. J. Chem Soc. Perkin Trans 1 1990, 2293).

Tabla 1

Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
17		(3-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-fenil-1H-imidazol -2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	515.4
18		{1-Metil-5-[2- (5-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-tri-Fluorometil sulfanil-fenil) -amina	559.3
19		(3-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	507.1
20		[4-Fluoro-3-(tetrahidro-furan-3-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-tri-fluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	539.3
21		(4-Bromo-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	529.1
22		(4-Fluoro-3-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluoro metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo imidazol-2-il} -amina	511.3
23		{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometilsulfanil-fenil) -amina	551.2

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
24		(2-Fluoro-5-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	511.1
25		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	537.0
26		(5-tert-Butil-2-fluor-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	525.1
27		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	483.1
28		(2-Cloro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	553.0
29		2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluoro-metilfenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo	494.1
30		(5-tert-Butil-2-cloro-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	541.1

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
31		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	613.1
32		(2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	629.0
33		{1-Metil-5-[2-(4-fenil-5-tri-fluorometil-1H-imidazol -2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluoro metilfenil) -amina	595.1
34		(3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	555.1
35		(4-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	583.2
36		(2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-tri-fluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	553.1
37		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzo-imidazol-2-il} -amina	559.1

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
38		(2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	575.1
39		(4-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	529.3
40		{1-Metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometilfenil) -amina	541.2
41		(5-tert-Butil-2-flúor-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	547.2
42		[4-(4-Metil-piperazin-1-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	549.2
43		Éster metílico del ácido 2-{4-[2-(2-Flúoro-5-trifluorometilfenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico	527.1
44		Éster metílico del ácido 2-{4-[2-(2-cloro-5-trifluorometilfenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico	625.0

(continuación)

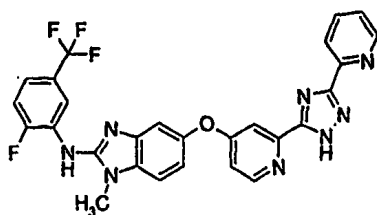
Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
45		(2-Fluoro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	537.1
46		(2-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	485.1
47		(2,5-Dimetoxi-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	511.1
48		(3,5-Dimetoxi-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	511.2
49		{1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(2-trifluorometil-fenil) -amina	519.1
50		(2-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina	479.2
51		(4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[2-(2-flúor-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1Hbenzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3Himidazol-4-il) -metanona	609.2
52		(2-hidroxi-etil) -amida del ácido 2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluoro-metilfenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico	556.1

(continuación)

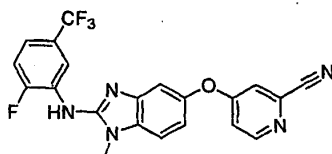
Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
53		{1-Etil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(2-flúor-5-trifluorometil-fenil) -amina	551.1
54		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(6-metoxi-1-metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina	567.4
55		{6-Metoxi-1-metil-5-[2- (5-tri-fluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluoro metilfenil) -amina	549.4
56		(4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[1-metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1Hbenzoimidazol-5-il-oxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-il) -metanona	591.2
57		{1-Etil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina	533.1
58		(2-hidroxi-etil) -amida del ácido 2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluoro-metilfenilamino)-1H-benzo-imidazol-5-il-oxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico	538.1
59		2-{1-Metil-5-[2- (5-trifluoro-metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1Hbenzoimidazol-2-il-amino}-5-trifluorometil fenol	535.3
59a		3-{1-Metil-5-[2- (5-trifluoro-metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-il-oxi]-1Hbenzoimidazol-2-il-amino}-6-trifluorometilfenol	535.3

Ejemplo 60

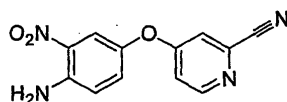
- 5 Preparación de (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2- (5-piridin-2-il-2H-[1,2,4]triazol-3-il) -piridin-4-il-oxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina



Preparación de 4-[2-(2-fluor-5-trifluoro-fenilamino)-1-metilo-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-carbonitrilo



Etapa 1. Síntesis de 4-(4-Amino-3-nitro-fenoxi)piridin-2-carbonitrilo:

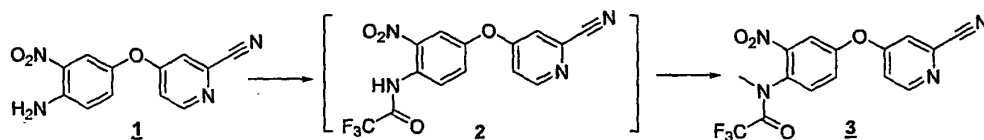


5

Se secó carbonato de potasio (9 g) al vacío con calentamiento, se enfrió a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadieron 4-Amino-3-nitrofenol (3,4 g), 4-cloro-2-cianopiridina (3,0 g) y dimetilsulfóxido (30 mL, anhídrido). Se agitó el sistema bajo atmósfera de nitrógeno mientras se iba calentando hasta 103 °C, y se dejó a esta temperatura durante 1 hr. Se enfrió luego la reacción hasta RT, se la vertió sobre hielo/H₂O (500 mL), se recolectó el precipitado, se lavó (H₂O), se disolvió (EtOAc), se secó (Na₂SO₄), se filtró y despojó hasta obtener un sólido. Éste fue suspendido (Et₂O), recolectado, secado al aire. Se obtuvieron 4,1 g (73,5%) y se recolectó una segunda cosecha (0,55 gm, 10%). m/z=257 (M+1).

10

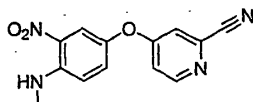
Etapa 2. Síntesis de N-[4-(2-Ciano-piridin-4-iloxi)-2-nitro-fenil]-2,2,2-trifluoro-N-metil-acetamida:



15 Se secó carbonato de potasio (1,6 g) al vacío con calentamiento, se enfrió hasta temperatura ambiente y suspendió en diclorometano (30 mL) con 4-(4-amino-3-nitro-fenoxi)piridin-2-carbonitrilo (2,0 g) bajo atmósfera de nitrógeno. Ésta fue enfriada hasta 0°C y se añadió anhídrido trifluoroacético (2,2 mL), puro. El material de partida entra en solución rápidamente tan pronto se hace la adición. Después de 10 min a 0°, se diluye la mezcla con diclorometano, se lava (H₂O, NaCl acuoso), se seca (K₂CO₃), se filtra y despoja hasta una espuma de color amarillo.

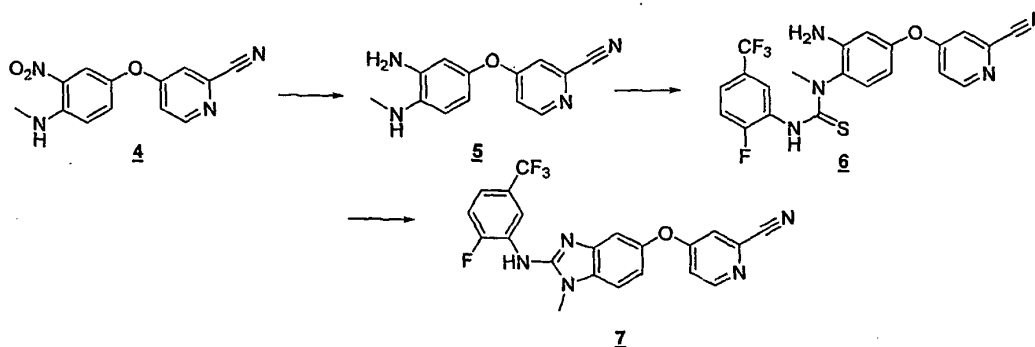
20 m/z = 353 (M+1). Se utilizó este producto sin purificación. Se añadió yodometano (0,53 mL) a una suspensión de carbonato de potasio (1,858 g) en dimetilformamida DMF (30 mL que contenían al compuesto 2, ~7.8 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante la noche, luego se la vertió sobre H₂O (300 mL), se extrajo (Et₂O, 3 x 150 mL), se lavaron los extractos combinados (H₂O, NaCl acuoso), se secó (carbonato de potasio), filtró y despojó para producir un aceite de color anaranjado (7,4922 g). m/z = 367 (M+1).

25 Etapa 3. Síntesis de 4-(4-Metilamino-3-nitro-fenoxi)piridin-2-carbonitrilo:



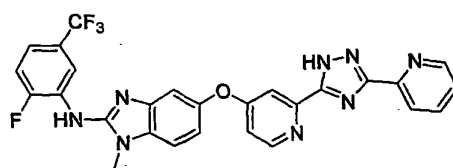
Se añadió NaOH (1 mL, 1 N acuoso) gota a gota a una solución de N-[4-(2-ciano-piridin-4-iloxi)-2-nitro-fenil] -2,2,2-trifluoro-N-metil-acetamida (**3**, 440 mg) en etanol (6 mL) a temperatura ambiente. Después de 40 min, se diluyó la mezcla con H₂O (20 mL) y enfrió hasta 0°C. Se recolectaron cristales brillantes de color anaranjado, se lavó (H₂O) y se secaron al aire 311,1 mg (94%). m/z = 271 (M+1)

5 Etapa 4. Síntesis de 4-[2-(2-fluor-5-trifluoro-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-carbonitrilo:



Se suspendió paladio sobre carbón (46 mg, 10% p/p) en MeOH (2 mL) bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió la suspensión resultante, bajo atmósfera de nitrógeno, a una suspensión de 4-(4-metilamino-3-nitro-fenoxi)-piridin-2-carbonitrilo (311 mg) en MeOH (3 mL) a temperatura ambiente. Se cambió la atmósfera por hidrógeno, y se agitó vigorosamente el sistema bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 1 hr. Se cambió luego la atmósfera por nitrógeno, se filtró la mezcla (Celite) y se utilizó el filtrado sin purificación adicional en la reacción siguiente. m/z = 242 (M+1). Se añadió 2-fluor-5-trifluorometilfenilisotiocianato (250 mg) a una solución del compuesto **5** en MeOH (10 mL). Se agitó la solución a reflujo durante 2 hrs. Después de juzgar que se completó la reacción, se añadió FeCl₃ anhidro (1,3 eq., 244 mg) a la reacción y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió la mezcla de reacción cruda a un embudo de separación que contenía EtOAc y agua. Se separaron las capas, y se extrajo la fase acuosa con EtOAc. Se combinaron las capas orgánicas, se las lavó con solución acuosa saturada de Na₂CO₃, agua, y salmuera, luego se secó (MgSO₄), y concentró. Este material fue sometido a cromatografía (gradiente 0 - 5% de MeOH en diclorometano sobre gel de sílice) para aislar el compuesto deseado con un rendimiento del 28 % del compuesto **4**. m/z = 428 (M+1).

20 Etapa 5. (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-piridin-2-il-2H-[1,2,4]triazol-3-il) -piridin-4-iyloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina.



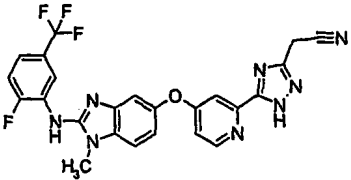
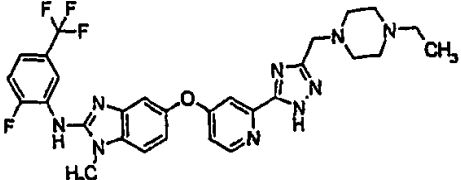
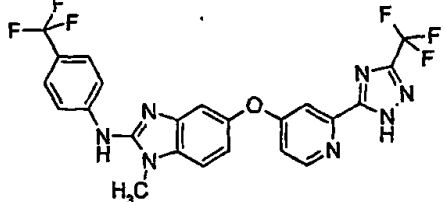
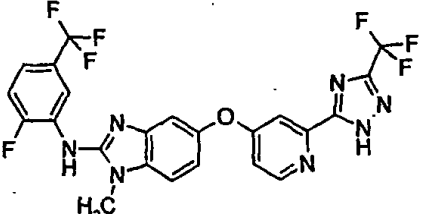
Etapa 6

25 Se solubilizó 4-[2-(4-Fluoro-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-carbonitrilo en EtOH (0,1 M) y se añadió NaOEt (1 eq., 0,5 M en EtOH) seguido por picolinil hidrazida (1 eq.) y la solución es calentada en un microondas durante 2000 segundos a 140° C. La mezcla de reacción es luego concentrada y purificada por medio de HPLC en fase inversa para producir el producto deseado. m/z = 547(M+1).

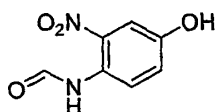
Ejemplos 61 - 64

30 Los compuestos mostrados en la siguiente Tabla 2 (Ejemplos 61 - 64) fueron preparados siguiendo el procedimiento descrito por el Ejemplo 60.

Tabla 2

Ejemplo	Estructura	Nombre	MH ⁺
61		(5-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluoro-metil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il}-1H-[1,2,4]triazol-3-il)-acetonitrilo	509.1
62		(5-{2-[5-(4-Etil-piperazin-1-il-metil)-2H-[1,2,4]triazol-3-il]-piridin-4-iloxi}-1-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-(2-fluoro-5-trifluoro metilfenil)-amina	596.2
63		{1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-2H-[1,2,4] triazol-3-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il)-(4-trifluorometil-fenil)-amina	520.2
64		(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil)-(1-metil-5-[2-(5-tri-fluorometil-2H-[1,2,4]triazol-3-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il)-amina	538.2

Ejemplo 65

Preparación de *N*-(4-hidroxi-2-nitrofenil)-formamida

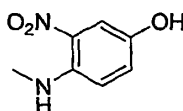
5

La *N*-(4-hidroxi-2-nitrofenil)-formamida puede ser preparada de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Montar un matraz de reacción de 5 bocas de 3 L acoplado con una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura, una manta de calentamiento, un condensador, un agitador mecánico, un embudo de adición de 1 L y una entrada de nitrógeno. Hacer pasar una corriente de nitrógeno dentro del reactor durante 5 minutos.
2. Cargar anhídrido acético (245 mL) al matraz. Agitar bajo atmósfera de nitrógeno.
- 5 3. Cargar ácido fórmico (125 mL) en una porción (el proceso es exotérmico debido a la mezcla y la reacción entre el anhídrido acético y el ácido fórmico).
4. Fijar el punto final de la temperatura interna (IT) en 60°C e iniciar el calentamiento. Después de que la IT alcanza los 60°C, agitar y mantener durante otras 2 horas.
5. Enfriar el contenido con un baño de hielo.
- 10 6. Cuando la IT alcanza la temperatura ambiente (aproximadamente 20°C), iniciar la adición de una solución de 4-amino-3-nitrofenol (160 g) en 700 mL de THF anhidro (tetrahidrofurano) a través del embudo de adición de 1 L en porciones de modo que IT no exceda los 40°C. El producto empieza a precipitar como un sólido de color amarillo.
7. Cuando se completa la adición, reemplazar el baño de hielo con un manto de calentamiento. Fijar el punto final de la IT en 60°C e iniciar el calentamiento.
- 15 8. Controlar el progreso de la reacción por medio de HPLC. La reacción normalmente toma menos de 1 hora.
9. Cuando el material de partida es <1% del área, añadir 500 mL de agua. Enfriar hasta temperatura ambiente con un baño de agua.
10. Recolectar el producto por medio de filtración al vacío. Lavar la torta del filtrado con 3 x 200 mL de agua. Secar al aire, y secar adicionalmente en un horno a 50°C con un vacío de 27 pulgadas de Hg con una purga suave de aire o de nitrógeno hasta alcanzar un peso consistente.
- 20

Ejemplo 66

Preparación de 4-metilamino-3-nitrofenol



El 4-Metilamino-3-nitrofenol puede ser preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- 25 1. Montar un matraz de reacción de 3 bocas de 500 mL acoplado con una sonda interna de temperatura, y una entrada de nitrógeno. Hacer pasar una corriente de nitrógeno dentro del reactor durante 5 minutos.
2. Cargar *N*-(4-hidroxi-2-nitrofenil) -formamida (5 g) y THF anhidro (100 mL) al reactor. Agitar bajo atmósfera de N₂ para producir una suspensión de color amarillo.
3. Añadir el dietil eterato de trifluoruro de boro (3,83 mL) lentamente a través de una jeringa.
- 30 4. Agitar la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Añadir el borohidruro de sodio (1,04 g) en porciones a través de un embudo de adición.
6. Agitar la reacción durante una hora y controlar la reacción por medio de HPLC cada hora después de eso (la reacción toma típicamente 3 horas).
- 35 7. Cuando la muestra de HPLC muestra que el material de partida es menor al 1,0 % añadir lentamente HCl 1 M (40 mL) a través de una jeringa durante un período de 10 minutos.
8. Agitar durante 60 minutos.

9. Añadir NaOH 1 M según se requiera a través de una jeringa para llevar el pH hasta $7 \pm 0,5$.

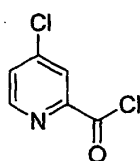
10. Verter la mezcla de reacción en un matraz fondo redondo 500 mL y concentrar a presión reducida (20 mm de Hg, a 25°C) hasta remover aproximadamente 100 mL de líquido claro.

5 11. Añadir agua (100 mL) al recipiente de reacción. Enfriar hasta $0 \pm 2^\circ\text{C}$ con agitación. El producto precipita como un sólido de color rojo.

12. Recolectar el producto por medio de filtración al vacío a través de un embudo de fritas gruesa. Lavar la torta del filtrado con agua (2 x 20 mL). Secar al aire y luego secar en un horno a 50°C / 27 pulgadas de Hg hasta alcanzar un peso consistente. Enviar las muestras a análisis.

Ejemplo 67

10 Preparación de cloruro de 4-cloropiridin-2-carbonilo



El cloruro de 4-cloropiridin-2-carbonilo puede ser preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:

15 1. Montar un matraz de reacción de 5 bocas de 5 L acoplado con una sonda interna de temperatura (IT), un controlador de temperatura, una manta de calentamiento, un condensador, un agitador mecánico, una entrada de nitrógeno, una salida de gas en la parte superior del condensador que está conectada a una trampa para líquido de 2 bocas de 2 L, que está a su vez conectada a un depurador de 12 L lleno con aproximadamente 6 litros de una solución de NaOH 8 M y agitado con agitación magnética. Hacer pasar una corriente de nitrógeno dentro del reactor durante 5 minutos y luego cortar el flujo de nitrógeno.

20 2. Cargar cloruro de tionilo (1,18 L) al reactor, seguido por bromuro de potasio (38,4 g) manteniendo agitación moderada (aproximadamente 200 rpm).

3. Cargar ácido picolínico (397 g) al reactor.

4. Fijar el punto final de la IT en 80°C e iniciar el calentamiento.

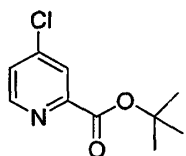
5. Tomar muestras y controlar el progreso de la reacción por medio de HPLC. La reacción normalmente toma alrededor de 14 horas hasta completarse. Un mayor calentamiento dará como resultado una mayor dicloración.

25 6. Cuando se considera que la reacción está completa (menos del 1% de ácido picolínico está presente en la mezcla de reacción), se detiene el calentamiento. Remover la manta de calentamiento.

30 7. Cuando la IT está por debajo de 30°C, transferir el líquido a un matraz de reacción de 3 L. Lavar el reactor de 5 L con 700 mL de tolueno. Transferir los enjuagues al matraz de 3 L. Remover el exceso de SOCl_2 y de tolueno a presión reducida. Repetir el proceso con 2 x 700 mL de tolueno. Remover todo el solvente para producir un sólido de color amarillo - anaranjado. Se añadió tolueno (400 mL) a la mezcla de reacción. Se llevó la mezcla resultante a la siguiente etapa.

Ejemplo 68

Preparación del éster t-butílico del ácido 4-cloropiridin-2-carboxílico

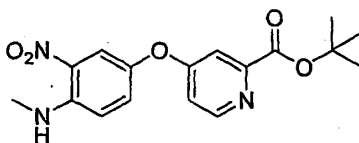


El éster t-butilico del ácido 4-cloropiridin-2-carboxílico puede ser preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Equipar un matraz fondo redondo de 12 L (4 bocas) con un agitador mecánico y un termómetro.
2. Cargar el reactor con tolueno (1 L), piridina (977,7 g), y di-t-butil dicarbonato (BOC)₂O (855,5 g).
- 5 3. Enfriar el reactor de modo que la temperatura interna sea de 0°C.
4. Añadir el cloruro de 4-cloropiridin-2-carbonilo (686 g) al reactor a una velocidad tal para mantener la temperatura interna de la reacción por debajo de 5°C.
5. Se permitió que la reacción llegara lentamente a temperatura ambiente (~20°C) y se agitó durante 16 horas.
- 10 6. Cuando se considera que la reacción está completa por medio de HPLC (material de partida < 0,5% del área) se lavó la reacción con agua (2 x 4 L), luego con una solución de HCl 1 M (2 x 2 L).
7. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida para remover tolueno y piridina residual.
8. Se añadió tolueno (500 mL), y luego se concentró la mezcla de reacción a presión reducida para obtener el producto deseado.

Ejemplo 69

- 15 Preparación de t-butil éster del ácido 4-(4-metilamino-3-nitrofenoxi)-piridin-2-carboxílico

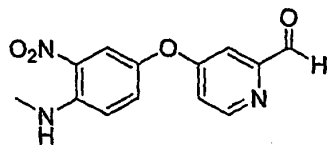


El éster t-butilico del ácido 4-(4-Metilamino-3-nitrofenoxi)-piridin-2-carboxílico puede ser preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Equipar un matraz fondo redondo de 3 L con un agitador mecánico, un termómetro y una entrada para nitrógeno.
- 20 2. Cargar el reactor con el K₂CO₃ (123 g).
3. Llevar el recipiente de reacción a una atmósfera inerte.
4. Cargar el reactor con éster t-butilico del ácido 4-metilamino-3-nitrofenol (100 g), éster t-butilico del ácido 4-cloropiridin-2-carboxílico (127 g), y DMSO seco (1 L).
5. Agitar vigorosamente la reacción y calentar hasta 100°C.
- 25 6. Cuando se considera que la reacción está completa por medio del uso de HPLC (< 0,5% del área del éster t-butilico del ácido 4-cloropiridin-2-carboxílico), verter la mezcla de reacción caliente en 3 L de agua fría con agitación (en volumen).
7. Aislar el compuesto deseado por filtración, como un sólido de color entre anaranjado y anaranjado - marrón.
8. Enjuagar el sólido aislado con agua (2 x 200 mL) seguido por heptano (2 x 200 mL).
- 30 9. Secar el material en un horno al vacío a 45 - 50°C hasta peso constante.

Ejemplo 70

Preparación de 4-(4-(metilamino)-3-nitrofenoxi)piridin-2-carbaldehído



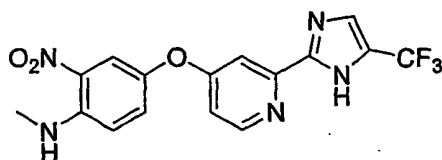
El 4-(4-(metilamino)-3-nitrofenoxi)piridin-2-carbaldehído puede ser preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- 5 1. Equipar un matraz fondo redondo de 1000 mL con una entrada de nitrógeno, un agitador mecánico, y un termómetro.
2. Cargar el reactor con el éster t-butilico del ácido 4-(4-metilamino-3-nitrofenoxi)-piridin-2-carboxílico (10 g) a través de un embudo de polvo.
3. Añadir 2-metilo THF (100 mL) a través de un embudo de polvo.
4. Enfriar el reactor hasta una temperatura interna de -25 °C.
- 10 5. Añadir el DIBAL (hidruro de diisobutilaluminio, 1,5 M en tolueno; 72 mL) a través de un embudo de adición a una velocidad tal para mantener la temperatura interna por debajo de -15°C.
6. Analizar la reacción a través de HPLC o GC (cromatografía de gases), comprobando la desaparición del éster.
7. Agitar la reacción a 20°C, controlando cada hora.
- 15 8. Si la reacción no progresa después de 2 horas, añadir otros 0,5 equivalentes de DIBAL (hidruro diisobutilaluminio) y controlar la reacción. Repetir esta etapa hasta que todo el éster ha sido consumido.
9. Una vez se completa la reacción se la detiene lentamente con MeOH (10 mL).
10. Añadir el tartrato de sodio y potasio (40 g) a 200 mL de agua y agitar hasta disolver.
11. Añadir la solución acuosa a la mezcla de reacción y permitir que se caliente hasta RT.
12. Añadir 2-metilo THF (100 mL) al recipiente de reacción.
- 20 13. Calentar la reacción a 50°C durante 1 hora con agitación.
14. Permitir que se separen las fases.
15. Remover la capa acuosa inferior.
16. Filtrar la capa orgánica a través de un tapón de Celite.
17. Enjuagar el Celite con 2-metilo THF (2 x 50 mL).
- 25 18. Añadir la mezcla de reacción a un matraz fondo redondo de 500 mL.
19. Concentrar la mezcla de reacción a ~50 mL por medio de destilación.
20. Enfriar la mezcla de reacción a 0°C con agitación.
21. Agitar la mezcla de reacción durante 1 hora a 0°C.
22. Filtrar la mezcla de reacción a través de un filtro con una frita gruesa.
- 30 23. Permitir que los sólidos se sequen sobre el filtro durante 30 minutos a 1 hora.

24. Analizar los sólidos por GC y RMN para determinar el % de alcohol, precipitando en metanol a 30°C durante 1 hora (5 mL of metanol por g de compuesto) si es necesario remover impureza de alcohol.

Ejemplo 71

Preparación de 4-(2-(5-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi)-N-metil-2-nitrobenzenamina



5

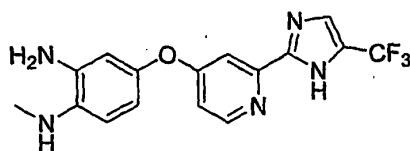
La 4-(2-(5-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N-metil-2-nitrobenzenamina puede ser preparada de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Equipar un matraz fondo Redondo de 2 L (3 bocas) con un agitador mecánico, una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura y un condensador.
- 10 2. Cargar el reactor con agua (590 mL) a través de un embudo de polvo.
3. Comenzar la agitación de la mezcla y cargar el reactor con acetato de sodio (240 g).
4. Enjuagar el matraz utilizado para la carga de acetato de sodio con agua (30 mL).
5. Calentar la reacción hasta 50 °C.
- 15 6. Añadir 3,3-dibromo-1,1,1-trifluoropropan-2-ona (395 g) en porciones a 50°C manteniendo la temperatura interna de la reacción por debajo de 100°C.
7. Calentar la reacción a una temperatura interna de 100°C.
8. Después de agitar la reacción durante 1 hora a 100°C; remover una muestra para análisis.
9. Mantener la agitación de la reacción a 100°C hasta que el material de partida sea < 1,5 %.
10. Una vez se complete la reacción, se enfría la mezcla de reacción a <65°C.
- 20 11. Mientras se enfría la reacción, equipar un matraz fondo redondo de 5 L (de 4 bocas enchaquetada) con una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura, un condensador de reflujo y un agitador mecánico.
12. Cargar el reactor de 5 L con acetato de etilo (500 mL) a través de un embudo de polvo y comenzar la agitación.
13. Cargar el reactor de 5 L con 4-(4-(metilamino)-3-nitrofenoxi)piridin-2-carbaldehído (200 g) a través de un embudo de polvo.
- 25 14. Enjuagar el embudo de polvo con acetato de etilo (200 mL) en el reactor de 5 L.
15. Cargar el reactor de 5 L con etanol al 95 % (1,3 L).
16. Transferir la mezcla de reacción de piruvaldehído del reactor de 2 L al reactor de 5 L. La temperatura de la mezcla en este punto es ~ 35 °C.
- 30 17. Añadir lentamente NH₄OH concentrado (1,3 L) en porciones controlando la temperatura. La reacción es exotérmica de modo que los primeros 500 mL deben ser añadidos en porciones manteniendo la temperatura interna por debajo de 50°C. El tiempo total de adición es de ~ 25 minutos. Las temperaturas elevadas provocan que el producto final se haga más rojo.
18. Calentar el reactor de 5 L a 50°C.

19. Agitar la mezcla de reacción a 50°C. La solución en este punto es usualmente de color más rojo - anaranjado.
20. Controlar la reacción cada hora hasta completar la reacción.
21. Una vez se considera que la reacción está completa, se enfría la mezcla de reacción a 0°C durante 2 horas.
22. Se aísla el producto por filtración a través de un filtro de vidrio de porosidad gruesa.
- 5 23. Se enjuaga el reactor con etanol frío (150 mL): Transferir el enjuague al frío.
24. Cargar el reactor de 5 L con agua (2L).
25. Agitar y enfriar el reactor a 10°C.
26. Transferir la torta húmeda del filtro al reactor de 5 L.
27. Agitar a 10°C durante 60 minutos.
- 10 28. Filtrar el producto a través de un filtro de vidrio de porosidad gruesa.
29. Enjuagar el reactor con agua (250 mL). Transferir el enjuague al filtro.
30. Secar la torta húmeda sobre el filtro durante 1 hora.
31. Transferir el producto a un matraz fondo redondo de 2 L (una sola boca) y secar en secadora utilizando un evaporador rotatorio con una temperatura de baño de 45 °C hasta registrar un peso constante.

15 Ejemplo 72

Preparación de 4-(2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N1-metilbenzen-1,2-diamina



La 4-(2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N1-metilbenzeno-1,2-diamina puede ser preparada de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- 20 1. Equipar un matraz de fondo redondo de 2 L (4 bocas) con un agitador mecánico, una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura, una purga de nitrógeno y un condensador de reflujo.
2. Cargar el reactor con EtOH (125 mL) a través de un embudo de polvo. Comenzar rápidamente la agitación.
3. Cargar el reactor con 4-(2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N-metil-2-nitrobenzenamina (50 g) a través de un embudo de polvo.
- 25 4. Calentar la reacción a 50°C.
5. Mientras se calienta la reacción, cargar un Erlenmeyer de 250 mL con agua (75 mL) a través de un embudo de polvo. Comenzar rápidamente la agitación.
6. Cargar el Erlenmeyer de 250 mL con 3,0 eq. de carbonato de sodio (41,92 g) a través de un embudo de polvo.
7. Agitar la mezcla hasta que se disuelvan todos los sólidos.
- 30 8. Una vez alcanza la suspensión los 50°C, transferir la mezcla de carbonato de sodio del Erlenmeyer de 250 mL a la mezcla de reacción a través de un embudo de polvo.

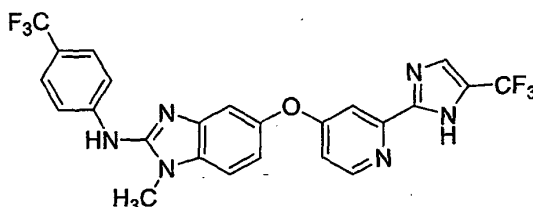
ES 2 374 451 T3

9. Cargar un Erlenmeyer de 250 mL con agua (75 mL) a través de un embudo de polvo. Comenzar rápidamente la agitación.
10. Cargar el Erlenmeyer de 250 mL con 1,0 eq. de ditionito de sodio (22,95 g) a través de un embudo de polvo justo antes de la adición al matraz de reacción.
- 5 11. Agitar rápidamente los sólidos hasta que estén disueltos en su mayoría.
12. Transferir rápidamente la mezcla de ditionito de sodio del Erlenmeyer de 250 mL a la mezcla de reacción a través de un embudo de polvo.
13. Agitar la reacción a 50°C durante 30 minutos.
- 10 14. Cargar un Erlenmeyer de 250 mL con agua (75 mL) a través de un embudo de polvo. Comenzar rápidamente la agitación.
15. Cargar el Erlenmeyer de 250 mL con 1,0 eq. ditionito de sodio (22,95 g) a través de un embudo de polvo justo antes de la adición al matraz de reacción.
16. Agitar rápidamente los sólidos hasta que estén disueltos en su mayoría.
- 15 17. Transferir rápidamente la mezcla de ditionito de sodio del Erlenmeyer de 250 mL a la mezcla de reacción a través de un embudo de polvo.
18. Agitar la reacción a 50°C durante 30 minutos.
19. Cargar un Erlenmeyer de 250 mL con agua (150 mL) a través de un embudo de polvo.
20. Cargar el Erlenmeyer de 250 mL con 2,0 eq. de ditionito de sodio (45,90 g) a través de un embudo de polvo justo antes de la adición al matraz de reacción.
- 20 21. Agitar rápidamente los sólidos hasta que estén disueltos en su mayoría.
22. Transferir rápidamente la mezcla de ditionito de sodio del Erlenmeyer de 250 mL a la mezcla de reacción a través de un embudo de polvo.
23. Agitar la reacción a 50°C durante 60 minutos.
24. Se toma una muestra para verificar que se completó la reacción.
- 25 25. Si la reacción está completa $\geq 98\%$, ir a la etapa 36. Si no, continuar entonces hasta la etapa 26.
26. Cargar el matraz de reacción de 2 L con 1,0 eq. de ditionito de sodio (22,95 g) a través de un embudo de polvo.
27. Agitar rápidamente la mezcla de reacción a 50°C durante 60 minutos.
28. Se toma una muestra para verificar que se completó la reacción.
29. Si la reacción está completa $> 98\%$, ir a la etapa 36. Si no, continuar entonces hasta la etapa 30.
- 30 30. Cargar el matraz de reacción de 2 L con 1,0 eq. de carbonato de sodio (13,97 g) a través de un embudo de polvo.
31. Agitar rápidamente la mezcla de reacción a 50°C durante 15 minutos.
32. Cargar el matraz de reacción de 2 L con 1,0 eq. de ditionito de sodio (22,95 g) a través de un embudo de polvo.
33. Agitar rápidamente la mezcla de reacción a 50°C durante 60 minutos.
- 35 34. Se toma una muestra para verificar que se completó la reacción.

35. Cuando la reacción está $\geq 98\%$ completa, ir a la etapa 36.
36. Una vez que se considera que se ha completado la reacción, cargar el matraz de reacción de 2 L con agua (125 mL) a través de un embudo de polvo.
37. Enfriar la mezcla de reacción a 10°C y agitar durante 1 hora.
- 5 38. Aislar el producto por medio de filtración a través de un filtro de vidrio de porosidad gruesa.
39. Enjuagar el reactor con agua (50 mL). Transferir el enjuague al filtro.
40. Secar la torta húmeda sobre el filtro hasta que no gotee más.
41. Cargar el matraz de reacción de 2 L con agua (500 mL) a través de un embudo de polvo.
42. Transferir la torta nuevamente al matraz de reacción a través de un embudo de polvo.
- 10 43. Agitar el material a temperatura ambiente durante 60 min.
44. Aislar el producto por medio de filtración a través de un filtro de vidrio de porosidad gruesa.
45. Enjuagar el reactor con agua (25 mL). Transferir el enjuague al filtro.
46. Secar la torta húmeda sobre el filtro aproximadamente durante 1 hora.
- 15 47. Transferir el producto a un matraz de fondo redondo de 2 L (una sola boca) y lentamente secar en secadora utilizando un evaporador rotatorio con un baño de temperatura de 50°C hasta registrar un peso constante.

Ejemplo 73

Preparación de {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina



- 20 La {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil fenil) -amina puede ser preparada de acuerdo con el siguiente procedimiento:
1. Equipar un matraz de fondo redondo de 4 bocas y de 2 L, con un agitador mecánico, una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura, una purga de nitrógeno y un condensador.
- 25 2. Cargar el reactor con 4-(2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N1-metilbenceno-1,2-diamina (200 g) a través de un embudo de polvo.
3. Cargar el reactor con acetonitrilo (1 L) a través de un embudo de polvo.
4. Comenzar la agitación de la muestra a temperatura ambiente y bajo una atmósfera de nitrógeno.
5. Después de 20 ± 5 min, cargar el reactor con 4-trifluorometilfenil isotiocianato (104 g) a través de un embudo de polvo.
- 30 6. Se toma una muestra 30 min después de la adición del isotiocianato para verificar que se completó la reacción.
7. Una vez se completó la reacción, filtrar la mezcla a través de un filtro de vidrio de porosidad gruesa.

8. Enjuagar el reactor con MeCN (200 mL). Transferir el enjuague al filtro.
9. Lavar los sólidos removidos con MeCN (200 mL).
10. Transferir el filtrado al matraz de fondo redondo de 4 bocas de 3 L, con un agitador mecánico, una sonda interna de temperatura, un controlador temperatura, una purga de nitrógeno y un condensador.
- 5 11. Cargar el reactor con N,N-diisopropiletilamina a través de un embudo de polvo.
12. Cargar el reactor con cloruro de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolinio a través de un embudo de polvo en cuatro porciones equivalentes cada 10 min (tiempo de adición total de 30 min).
- Después de la adición final, permitir que se agite la mezcla de reacción durante 10 min adicionales.
13. Calentar la reacción a $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- 10 14. Se toma una muestra 30 minutos después del calentamiento de la mezcla para verificar que se completó la reacción.
15. Una vez se completó la reacción, transferir la mezcla de reacción a través de un filtro de cápsula en línea de 0,2 μM hasta un matraz de fondo redondo de 3 L equipado como en la etapa 10.
16. Añadir el agua a través de un embudo de polvo.
- 15 17. Calentar la reacción a $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
18. Después de calentar durante 2 h, permitir que la mezcla de reacción se enfríe hasta $20 - 25^{\circ}\text{C}$ y agitar durante 1 h más.
19. Aislar el producto por medio de filtración a través de un filtro de vidrio de porosidad media.
20. Enjuagar el reactor con MeCN/agua en una proporción 2:1 (300 mL). Transferir el enjuague al filtro.
- 20 21. Lavar la torta del filtrado con MeCN/agua en una relación de 2:1 (300 mL).
22. Secar la torta húmeda sobre el filtro aproximadamente durante 1 hora.
23. Transferir el producto a una placa de secado y secar el material en un horno al vacío a $70 \pm 5^{\circ}\text{C}$ con una pequeña purga de nitrógeno hasta que la cantidad de MeCN residual (acetonitrilo) sea menor a 410 ppm.
- 25 24. Para recristalizar, se calienta el producto a reflujo en 15 volúmenes (peso a volumen) de EtOH en un reactor equipado con un agitador mecánico, una sonda interna de temperatura, un controlador de temperatura, una purga de nitrógeno y un condensador.
25. Se somete la mezcla a reflujo durante 30 minutos cuando la cabeza de destilación es sustituida por el condensador.
26. Se destila el EtOH hasta que quedan 4 volúmenes. Se detiene el calentamiento y se añade un volumen de agua.
- 30 27. Se permite que la mezcla se enfríe hasta $0 - 5^{\circ}\text{C}$.
28. Aislar el producto por medio de filtración a través de un filtro de vidrio de porosidad media.
29. Enjuagar el reactor con EtOH/agua en una relación 4:1(1 volumen). Transferir el enjuague al filtro.
30. Lavar la torta del filtro con agua (1 volumen).
31. Se car la torta húmeda sobre el filtro aproximadamente durante 1 hora.
- 35 32. Transferir el producto a una placa de secado y secar el material en un horno de vacío a $50^{\circ}\text{C} \pm ^{\circ}\text{C}$ con una pequeña purga de nitrógeno hasta lograr un peso constante.

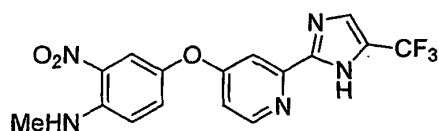
Ejemplo 74

Preparación de {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il }- 4-trifluoro metil -fenil) -amina

- 5 Se añadió 4-Trifluorometilfenil isotiocianato (200 mg, 1 mmol) a una mezcla de 4-(2- (5-(trifluorometil) - 1 H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-Nl-metilbenceno-1,2-diamino (350 mg, 1 mmol) en 3 mL de acetonitrilo. Después de agitar durante 20 min a temperatura ambiente, el análisis por HPLC mostró una conversión completa. Se añadió trietilamina (0,3 mL, 2,2 mmol) seguido por yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (270 mg, 1,05 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 50 °C durante 5 h. Se detuvo el calentamiento y se añadieron 1,5 mL de agua. Después de agitar las mezclas durante 2 h, se recolectó el sólido por medio de filtración y se lavó con acetonitrilo/agua en proporción 2:1 (3 X 1 mL) para producir 317 mg (61%) del compuesto del título.

Ejemplo 74a

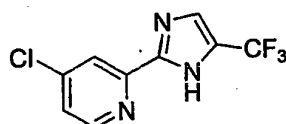
Preparación de 4-(2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N-metil-2-nitrobenzenamina



- 15 Se añadió NaOMe (1,5 mL, 6,3 mmol, 25% en peso en MeOH) a una mezcla de 4-(4-(metilamino)-3-nitrofenoxi)piridin-2-carbonitrilo (1,72 g, 6,3 mmol) en 1-PrOH (10 mL). Se calienta la mezcla a 50 °C (temperatura interna). Después de calendar durante 1 h, el análisis por HPLC indicó una conversión completa del material de partida. Se añadió NH₄OAc (1,46 g, 18,9 mmol) y se calentó la mezcla a 70 °C. Después de 1 h a 70 °C, se calentó la mezcla a 85 °C. Simultáneamente, se añadió 3- bromo-1,1,1-trifluoroacetona (0,8 mL, 7,56 mmol) en 4 porciones x 0,2 mL cada 30 min. Se calentó la mezcla a 85 °C durante 20 h. Se permitió que la mezcla se enfriara luego a temperatura ambiente y se añadió agua (10 mL). Después de agitar durante varias horas, se enfrió la mezcla en un baño de hielo/agua. Después de 1 h en el baño de hielo/agua, se recolectó el sólido por medio de filtración y se lavó con 1-PrOH/agua en proporción 1:1 (2 x 7 mL). Se secó el sólido en un horno al vacío a 50 °C aproximadamente durante 16 h para producir 0,982 g (41%) del compuesto del título.

Ejemplo 74b

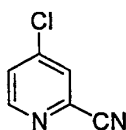
- 25 Preparación de 4-cloro-2- (5-(trifluorometil) -1H-imidazol-2-il)piridina



- 30 Se añadió NaOMe (0,46 mL, 2 mmol, 25% en peso en MeOH) a una mezcla de 4-cloro-2-ciano-piridina (277 mg, 2 mmol) en 1-PrOH (3 mL). Se calentó la mezcla a 50 °C (temperatura del bloque de reacción). Después de calendar durante 1 h, el análisis de HPLC indicó la conversión completa del material de partida. Se calentó la mezcla a 70 °C y se añadió NH₄OAc (462 mg, 6 mmol). Después de 1 h a 70 °C, se calentó la mezcla a 85 °C. Simultáneamente, se añadió 3-bromo-1,1,1-trifluoroacetona (0,25 mL, 2,4 mmol) en 4 porciones x 0,063 mL cada 30 min. Se calentó la mezcla a 85 °C aproximadamente durante 20 h. El producto crudo fue del 72,4% (LCAP) por medio de análisis de HPLC y fue confirmado por medio de análisis de LC-MS.

Ejemplo 74c

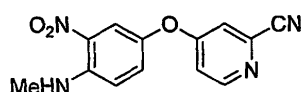
- 35 4-Cloro-2-ciano-piridina



Se enfriaron 4-Cloro-2-piridincarboxamida (93,9 g, 0,6 moles) y TEA (125 mL, 0,9 moles) en EtOAc (500 mL) hasta 0,2°C a través de una unidad externa de enfriamiento. Se añadió TFAA (92 mL, 0,66 moles) a través de un embudo de adición durante 40 min. La temperatura interna se elevó a 10°C durante la adición. La temperatura al finalizar la adición fue de 0,0 °C. Después de la adición, se apagó el enfriador. Después de 30 min adicionales, el análisis de HPLC mostró 4,3% (LCAP) del material de partida. Se añadieron 8,3 mL adicionales (0,06 moles) de TFAA. Después de agitar la mezcla de reacción durante 20 min adicionales, el análisis de HPLC indicó una conversión completa. Se añadió K₂CO₃ acuoso al 10% (p/v, 500 mL). La temperatura interna alcanzó de 13,7 a 22,0°C. Se transfirió la mezcla a un embudo de separación después de agitar durante 20 min. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (150 mL). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con ácido cítrico acuoso al 10% (p/v, 300 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró, y concentró. Se secó el producto crudo en un horno al vacío a 50°C durante 16 h para producir 72,85 g (87%) del compuesto del título: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,6 (m, 1 H), 7,7 (m, 1 H), 7,5 (m, 1 H); RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 151,8, 145,3, 134,9, 128,7, 127,4, 116,1; HPLC >99% (LCAP).

Ejemplo 74d

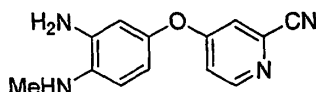
4-(4-Metilamino-3-nitro-fenoxi)-piridin-2-carbonitrilo



Se calentó una mezcla de 4-cloro-2-ciano-piridina (6,9 g, 0,05 moles), 4-metilamino-3-nitrofenol (8,4 g, 0,05 moles), y K₂CO₃ (10,4 g, 0,075 moles) en DMSO (80 mL) a 60°C. Después de 11,5 h, el análisis de HPLC indicó una conversión completa de ambos materiales de partida. Después de enfriar a 20°C, se añadió agua (240 mL) a la mezcla de reacción. La temperatura se elevó hasta 40°C antes de disminuir hasta temperatura ambiente. Se recolectó el sólido por medio de filtración y se lo lavó con agua (2 x 40 mL). Luego se precipitó el sólido en heptano (40 mL). Se recolectó el sólido y se lo lavó con heptano (40 mL). Se secó el producto crudo en un horno al vacío a 50°C durante 16 h para producir 10,33 g (76%) del compuesto del título: RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,5 (m, 1 H), 8,2 (m, 1 H), 7,9 (m, 1 H), 7,7 (in, 1 H), 7,5 (m, 1 H), 7,2 (m, 1 H), 7,1 (m, 1 H), 3,0 (s, 3 H); RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,1, 152,9, 144,4, 140,6, 134,1, 130,4, 130,1, 117,9, 117,1, 117,0, 116,5, 114,9, 29,8; APCI MS [M + H]⁺ = 271; HPLC >99% (LCAP).

Ejemplo 74e

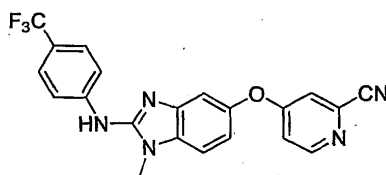
4-(4-Metilamino-3-amino-fenoxi)-piridin-2-carbonitrilo



Se calentó 4-(4-Metilamino-3-nitro-fenoxi)-piridin-2-carbonitrilo (5,0 g, 0,019 moles) en EtOH (15 mL) a 40°C. Na₂CO₃ (4,7 g, 0,044 moles) seguido por H₂O (8,4 mL). Se añadió Na₂S₂O₄ (3,3 g, 0,019 moles) seguido por H₂O (10 mL). La temperatura se elevó desde 41,7 hasta 49,5°C. Después de enfriar hasta 41,7°C, se añadió Na₂S₂O₄ (3,3 g, 0,019 moles) seguido por H₂O (10 mL). La temperatura se elevó hasta 44,5°C. Después de enfriar hasta 36,7°C, se añadió Na₂S₂O₄ (6,6 g, 0,038 moles) seguido por H₂O (20 mL). La temperatura se elevó hasta 44,0°C. El análisis de HPLC mostró 4,1% (LCAP) del material de partida. Se añadió Na₂S₂O₄ (3,3 g, 0,019 moles) adicional. Después de agitar durante 15 min adicionales, se removió el calor y se añadió H₂O (12,5 mL). A 25°C, se añadió Na₂CO₃ (1,3 g, 0,012 moles) adicional y se enfrió la mezcla en un baño de hielo/agua. A menos de 5°C, se dejó envejecer la mezcla durante 30 min (temperatura final de 1,5°C). Se recolectó el sólido por medio de filtración y se lavó con H₂O (10 mL seguido por 5 mL). Se secó el sólido sobre el filtro durante 30 min y luego se lo transfirió al matraz de reacción y se añadió H₂O (50 mL). Se agitó la mezcla durante 45 min. Se recolectó luego el sólido por medio de filtración y se lo lavó con H₂O (2 x 10 mL). Se secó el producto crudo en un horno al vacío a 50°C durante 16 h para producir 3,50 g (76%) del compuesto del título: RMN ¹H (400 MHz, MSO-*d*₆) δ 8,5 (m, 1 H), 7,5 (m, 1 H), 7,1 (m, 1 H), 6,4 (m, 1 H), 6,3 (m, 2 H), 4,8 (s, 2 H), 4,7 (s, 1 H), 2,7 (s, 3 H); APCI MS [M + H]⁺ = 241; HPLC >99% (LCAP).

Ejemplo 74f

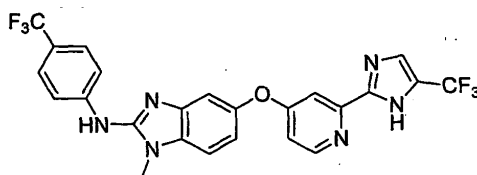
4-[1-Metil-2-(4-(trifluorometil)fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-carbonitrilo.



Se añadió 4-(Trifluorometil)fenil isotiocianato (9,65 g, 0,0475 moles) a una solución de 4-(4-metilamino- 3-amino-
 5 fenoxi)-piridin-2-carbonitrilo (12,0 g, 0,05 moles) en MeCN (60 mL). El análisis de HPLC indicó una conversión
 completa de la amina después de 40 min. Se filtró la mezcla y se lavaron los sólidos removidos con MeCN (2 x 12
 mL). Se añadió DIPEA (17,5 mL, 0,1 moles) al filtrado. Se añadió cloruro de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolinio (DMC) en
 4 porciones x 2,11 g (8,44 g, 0,05 moles) cada 10 min. Después de la adición final, se permitió la agitación de la
 10 mezcla durante 10 min adicionales cuando el análisis de HPLC indicó una conversión completa. Se calentó luego la
 mezcla a 50°C (temperatura interna). Después de 45 min a 50°C, el análisis de HPLC indicó una conversión
 completa hasta el producto. Se permitió que se enfriara la mezcla a temperatura ambiente y luego se añadió H₂O (45
 mL). La mezcla de reacción era inicialmente homogénea antes de que el compuesto empezar a precipitar de la
 15 mezcla. Después de agitar durante 2 h, se recolectó el sólido por medio de filtración y se lavó con MeCN/H₂O en
 proporción 2:1 (2 x 20 mL). Se secó el producto crudo en un horno al vacío a 50 °C durante 16 h para producir 16,10
 g (78%) del compuesto del título. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,5 (m, 1 H), 8,5 (m, 1 H), 8,0 (m, 2 H), 7,7 (m, 2
 H), 7,6 (m, 1 H), 7,4 (m, 1 H), 7,3 (m, 1 H), 7,1 (m, 1 H), 6,9 (m, 1 H), 3,7 (m, 3 H); APCI MS [M + H]⁺ = 410; HPLC
 >99% (LCAP).

Ejemplo 74g

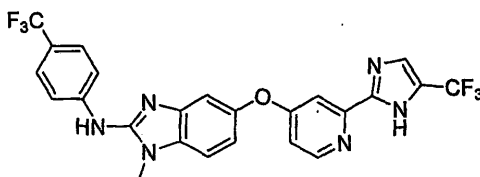
{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina



Se añadió NaOMe (0,23 mL, 1 mmol, 25% en peso en MeOH) a una mezcla del Ejemplo 74f (409 mg, 1 mmol) en
 20 MeOH (4 mL). Después de 1 h a temperatura ambiente el análisis de HPLC indicó 46,2% (LCAP) del material de
 partida. Se calentó la mezcla a 50°C (temperatura del bloque de reacción). Después de calentar durante 1 h, el
 análisis de HPLC indicó que quedaba 4,1% (LCAP) del material de partida. Se añadió NH₄OAc (231 mg, 3 mmol)
 seguido por 3-bromo-1,1,1-trifluoroacetona (0,13 mL, 1,2 mmol). Se calentó la mezcla a 50°C aproximadamente
 25 durante 20 h. Se añadió 3-bromo-1,1,1-trifluoroacetona (0,06 mL, 0,58 mmol) y se calentó la mezcla a 60°C.
 Después de 24 h a 60°C, se permitió que la mezcla se enfriara hasta temperatura ambiente. Se añadió agua (4 mL)
 seguido por EtOAc (4 mL). Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con EtOAc. Se secaron las capas
 orgánicas combinadas (Na₂SO₄), se filtró, y concentró. Se disolvió el producto crudo en IPA (4 mL). Se añadió ácido
 30 metanosulfónico (0,020 mL) a 1 mL de solución de la solución de IPA. Se calentó la mezcla a 80°C durante la noche.
 Se enfrió luego la mezcla hasta temperatura ambiente y se la concentró para producir el compuesto del título: APCI
 MS [M + H]⁺ = 519.

Ejemplo 74h

{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina



Se añadió NaOMe (0,23 mL, 1 mmol, 25% en peso en MeOH) a una mezcla del Ejemplo 74f (409 mg, 1 mmol) en 1-
 35 PrOH (2 mL). Se calentó la mezcla a 50 °C (temperatura del bloque de reacción). Después de calentar durante 1 h,
 el análisis de HPLC indicó una conversión completa del material de partida. Se calentó la mezcla a 70 °C y se añadió
 NH₄OAc (231 mg, 3 mmol). Después de 1 h a 70°C, se calentó la mezcla a 85 °C. Simultáneamente, se añadió 3-
 bromo-1,1,1-trifluoroacetona (0,13 mL, 1,2 mmol) en 4 porciones x 0,033 mL cada 30 min. Se calentó la mezcla a 85

°C aproximadamente durante 20 h. Se permitió que se enfriara la mezcla hasta temperatura ambiente y se añadió agua (2 mL). Después de agitar durante varias horas, se recolectó el sólido por medio de filtración y se lo lavó con 1-PrOH/agua en proporción 1:1 (2 x 3 mL). Se secó el sólido en un horno al vacío a 50 °C aproximadamente durante 16 h para producir 0,11 g (21%) del compuesto del título.

5 Ejemplo 75

Preparación de {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina

10 Se añadió 4-trifluorometilfenil isotiocianato (200 mg, 1 mmol) a una mezcla de 4-(2- (5-(trifluorometil) - 1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N1-metilbenceno-1,2-diamina (350 mg, 1 mmol) en 3 mL de acetonitrilo. Después de agitar durante 20 min a temperatura ambiente, el análisis de HPLC mostró una conversión completa. Se agitó una mezcla de tiourea (553 mg, 1 mmol) en POCl₃ (3 mL) a temperatura ambiente. Después de 4 h, se calentó la mezcla aproximadamente a 50 °C. Después de calentar durante 2 h, el análisis de HPLC indicó que se completó la reacción.

Ejemplo 76

Ensayo de filtración de Raf/Mek

15 Amortiguadores

Amortiguador del ensayo: Tris 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 15 mM, EDTA 0,1 mM, DTT 1 mM

Amortiguador de lavado: Hepes 25 mM, pH 7,4, pirofosfato de sodio 50 mM, NaCl 500 mM

Reactivo d detención: EDTA 30 mM

Materiales

20 Raf, activa: Upstate Biotech #14 - 352
 Mek, inactiva: Upstate Biotech #14 - 205
 33P-ATP: NEN Perkin Elmer #NEG 602 h
 Placas de análisis de 96 pozos: Placas Falcon de polipropileno con fondo en U #35 - 1190
 Aparato de filtración: Millipore #MAVM 096 OR
 25 Placas de filtración de 96 pozos: Millipore IµMobilon 1 #MAIP NOB
 Fluido de centelleo: Wallac OptiPhase "SuperMix" #1200 - 439

Condiciones del ensayo

Raf aproximadamente 120 pM

Mek aproximadamente 60 nM

30 33p-ATP 100 nM

Tiempo de reacción 45 - 60 minutos a temperatura ambiente

Protocolo del ensayo

35 Se combinaron Raf y Mek en concentraciones finales de 2X en amortiguador de ensayo (Tris 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 15 mM, EDTA 0,1 mM y DTT 1 mM) y se dispensaron 15 µL por pozo en placas de ensayo de polipropileno (placas de ensayo Falcon de 96 pozos en polipropileno con fondo en U #35 - 1190). Los niveles de fondo se determinan en pozos que contienen Mek y DMSO sin Raf.

A los pozos que contienen Raf/Mek se les añadió 3 µl de 10X de un compuesto del ensayo inhibidor de quinasa Raf diluido en DMSO al 100%. Se inició la reacción de activación de la quinasa Raf por medio de la adición de 12 µL por pozo de 2,5X ³³P-ATP diluido en el amortiguador del ensayo. Después de 45 - 60 minutos, se detuvieron las reacciones con la adición de 70 µL de reactivo de detención (EDTA 30 mM). Se humedecieron previamente las placas de filtración durante 5 min con etanol al 70%, y luego se enjuagó por medio de filtración con amortiguador de lavado. Se transfirieron luego las muestras (90 µl) de los pozos de reacción a las placas de filtración. Se lavaron las placas de filtración 6X con amortiguador de lavado utilizando un aparato de filtración Millipore. Se secaron las placas y se añadieron 100 µL por pozo de fluido de centelleo (Wallac OptiPhase "SuperMix" #1200 - 439). Se determinó luego el CPM utilizando un lector Wallac Microbeta 1450.

10 Ejemplo 77

ENSAYO 2: Cribado de Raf biotinilada

Cribado *in vitro* de Raf

La actividad de diferentes isoformas de serina/treonina quinasa Raf puede ser medida proporcionando sustrato ATP, MEK, y analizando la transferencia de la unidad estructural fosfato al residuo de MEK. Se obtuvieron isoformas recombinantes de Raf por medio de purificación a partir de células de insecto sf9 infectadas con un vector de expresión baculovirus recombinante humano de Raf. La quinasa recombinante MEK inactiva fue expresada en *E. coli* y marcada con Biotina después de la purificación. Para cada ensayo, se diluyeron en forma serial los compuestos del ensayo en DMSO y luego se los mezcló con Raf (0,50 nM) y la quinasa biotina-MEK inactiva (50 nM) en amortiguador de reacción más ATP (1 µM). Las reacciones fueron posteriormente incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente y detenidas por medio de la adición de EDTA 0,5 M. La mezcla de reacción detenida fue transferida a una placa recubierta con neutravidina (Pierce) e incubada durante 1 hora. El producto fosforilado fue medido con el sistema de fluorescencia resuelta en el tiempo DELFIA (Wallac), utilizando un anti-p-MEK de conejo (Señalización Celular) como el anticuerpo primario y anticonejo marcado con europio como el anticuerpo secundario. La fluorescencia resuelta en el tiempo fue leída sobre un fluorómetro 1232 DELFIA. La concentración de cada compuesto para una inhibición del 50% (IC₅₀) fue calculada por medio de regresión no lineal utilizando el programa de análisis de datos XL Fit.

Utilizando los procedimientos de los Ejemplos 76 o 77, se demostró que los compuestos de los Ejemplos 1 - 64 tienen una actividad inhibidora de quinasa Raf con una IC₅₀ de menos de 5 µM.

Ejemplo 78

30 Inhibición del crecimiento del tumor de melanoma

3 x 10⁶ células de melanoma humano A375M fueron implantadas en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad que pesan aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 150 mm³ (17 días después del implante), los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos de nueve ratones cada uno y se inició el tratamiento con un compuesto de la invención. Se dosificaron los ratones por medio de alimentación oral a través de sonda cada día durante 14 días ya sea con el vehículo solo, o con 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 25 todo en un volumen de 0,2 mL. Se midió el volumen del tumor dos veces por semana utilizando calibradores digitales. El volumen promedio del tumor es mostrado en la Figura 1.

Ejemplo 79

40 Inhibición de la señalización de la quinasa Raf en células de melanoma

Como en el Ejemplo 78, 3 x 10⁶ células de melanoma humano A375M fueron implantadas en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad que pesan aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 150 mm³ (17 días después del implante), los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos, y fueron dosificados por medio de alimentación oral a través de sonda cada día durante 5 días con el vehículo solo, o con 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 25 todo en un volumen de 0,2 mL. A las 4 y 24 horas después de la dosis,

A las 4 y 24 horas después de la dosis, los ratones fueron sacrificados, se recolectaron los tumores y se los congeló en forma instantánea.

50 Los tumores congelados fueron descongelados sobre hielo, pesados y luego homogenizados en amortiguador RIPA con minitables de del cóctel inhibidor completo de proteasa libre de EDTA de Roche (2 tabletas por 25 mL de

amortiguador), fenilmetilsulfonilfluoruro 1 mM (PMSF) y Cóctel Inhibidor II de Fosfatasa Sigma 1X, utilizando el Magna-lyser de Roche (2 x ciclos de 1 minuto a 6500 rpm a 4°C). Por cada 100 mg de tejido tumoral, se añadió 1 mL de amortiguador de lisis RIPA. Se centrifugaron los homogenatos a 14K RPM durante 20 minutos en una microfuga a 4°C, seguido por homogenización adicional utilizando Qiagen Qias shredders (9K RPM durante 2 minutos a 4°C). Se determinó la concentración de proteína utilizando el ensayo de proteína Pierce BCA y luego 20 µg de cada muestra fueron cargados por pozo en un gel de poli(acrilamida Tris-Glicina) SDS al 4 - 20%. Después de PAGE, se transfirió la proteína a membranas de nitrocelulosa, se la bloqueó (leche descremada en polvo al 5% en TBST) durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se la probó durante la noche a 4°C utilizando un dilución 1:1000 (en amortiguador de bloqueo) de anticuerpo anti-fosfo-ERK1/2 policlonal de conejo (Señalización Celular #9101), anticuerpo anti-fosfo-MEK policlonal de conejo (Señalización Celular #9121), anticuerpo anti-ERK1/2 policlonal de conejo (Señalización Celular #9102) o anticuerpo anti-MEK policlonal de conejo (Señalización Celular #9122). Las membranas fueron luego lavadas 5 veces (5 minutos cada una) con TBST a temperatura ambiente y se añadió un anticuerpo anticonejo de cabra marcado con HRP con una dilución 1:5000 en todas las transferencias (en amortiguador de bloqueo) y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Las membranas fueron luego lavadas 5 veces (5 minutos cada una) con TBST, y se incubaron las membranas con Pierce Super-Signal durante 4 mins, seguido de exposición sobre película durante un período de tiempo de exposición de 1 s a 20 minutos. Los resultados para las muestras 4 y 24 horas después de la dosis se muestran en las Figuras 2A y 2B, respectivamente.

Ejemplo 80

Inhibición del crecimiento del tumor de cáncer de colon

Se implantaron 2 x 10⁶ células de cáncer de colon humano HT29P en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad que pesaban aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 250 mm³ (14 días después del implante), los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos de diez y se inició el tratamiento con un compuesto de la invención. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral cada día durante 14 días ya sea solo con el vehículo, o con 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 25 todo en un volumen de 0,2 mL. Se midió el volumen del tumor dos veces por semana utilizando calibradores digitales. El volumen promedio del tumor es mostrado en la Figura 3.

Ejemplo 81

Inhibición de la señalización de la quinasa Raf en células de cáncer de colon

Se implantaron 3 x 10⁶ células de cáncer de colon humano HT29P en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad que pesaban aproximadamente 24g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 150 mm³ (17 días después del implante), los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos y se inició el tratamiento con un compuesto de la invención. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral cada día durante 5 días ya sea solo con los vehículos, o con 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 25 todo en un volumen de 0,2 mL. A las 1, 4, y 24 horas después de la dosificación, los ratones fueron sacrificados, se recolectaron los tumores y se congelaron en forma instantánea. Los tumores congelados fueron luego tratados de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 79. Los resultados para las muestras 1, 4, y 24 horas después de la dosificación son mostrados en las FIGURAS 4A, 4B, y 2C, respectivamente.

Ejemplo 82

Inhibición de la señalización de la quinasa Raf con el compuesto del ejemplo 1 en un ensayo bioquímico *in vitro*

Ensayo *in vitro* de Raf

El efecto inhibitorio del compuesto del ejemplo 1: {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzimidazol-2-il}-(4-trifluorometilfenil)-amina sobre B-Raf de tipo silvestre, c-Raf de tipo silvestre y B-Raf mutante (V600E) fue determinado utilizando el siguiente ensayo biotinilado. La actividad de quinasa de las diferentes isoformas de las serina/treonina quinasas Raf fue medida proveyendo ATP, un sustrato de quinasa recombinante de MEK inactiva y analizando la transferencia de la unidad estructural fosfato al residuo de MEK. MEK de longitud completa recombinante con una mutación en el sitio que inactiva el enlazamiento de ATP de K97R (dejando la quinasa inactiva) fue expresada en *E. coli* y marcada con Biotina después de la purificación. El ADNc de MEK fue subclonado con una etiqueta de *E. coli* en el terminal N y expresado en *E. coli* y el sustrato MEK recombinante fue purificado a partir de lisado de *E. coli* por medio de cromatografía de afinidad de níquel seguido por intercambio aniónico. La preparación final del sustrato de MEK fue biotinilada (Pierce EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotina) y concentrada hasta 11,25 µM. Se obtuvieron B-Raf recombinante, c-Raf y B-Raf mutante por medio de la purificación

de células de insecto sf9 infectadas con los correspondientes vectores de expresión recombinante de Raf humana. Las isoformas recombinantes de Raf fueron purificadas a través de una interacción del anticuerpo de Glu o por medio de cromatografía de ión metálico.

5 Para cada ensayo, el compuesto del ejemplo1 fue diluido en forma serial en DMSO y luego mezclado con B-Raf, c-Raf o B-Raf mutante (0,50 nM cada una). Se añadió el sustrato de la quinasa biotina-MEK inactiva (50 nM) en el amortiguador de la reacción más ATP (1 µM). El amortiguador de la reacción contenía Tris-HCL₂ 30 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 2 mM, EDTA 4 mM, beta-glicerofosfato 25 mM, MnCl₂ 5 mM, y BSA/PBS al 0,01%. Las reacciones fueron posteriormente incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente y detenidas por medio de la adición de EDTA 0,5 M. La mezcla de reacción detenida fue transferida a una placa recubierta con neutravina (Pierce) e incubada durante 1 hora. El producto fosforilado fue medido con el sistema de fluorescencia resuelto en el tiempo DELFIA (Wallac), utilizando un anti-p-MEK de conejo (Señalización Celular) como el anticuerpo primario y anticonejo marcado con europio como el anticuerpo secundario. La fluorescencia resuelta en el tiempo fue leída sobre un fluorómetro DELFIA Wallac 1232. La concentración del compuesto del ejemplo 1 para inhibición del 50% (IC₅₀) fue calculada por medio de regresión no lineal utilizando el programa de análisis de datos XL Fit.

15 Resultados:

El compuesto del Ejemplo 1 exhibió una potente inhibición (IC₅₀ < 0.1 µM) de la actividad de B-Raf, c-Raf, y B-Raf mutante (V600E) como se muestra a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3: Potencia del compuesto del Ejemplo 1 contra actividad de Raf *in vitro*

Objetivo	IC ₅₀ Bioquímico del compuesto del Ejemplo 1
B-Raf (V600E)	0,0053 µM
B-Raf	0,068 µM
c-Raf	0,004 µM

20 Como se muestra más arriba en la Tabla 3, el compuesto del Ejemplo1 muestra una potente actividad inhibidora contra la isoforma B-Raf de tipo silvestre, la isoforma c-Raf de tipo silvestre, y la quinasa Raf B-Raf mutante (V600E). Como se muestra en la FIGURA 5, se considera que las quinasas Raf son los efectores primarios de Ras en la ruta de señalización de MAPK (Ras/RaMK/ERK). Las quinasas Raf son activadas por Ras y fosforilan y activan Mek1 y Mek2, que a su vez activan las Quinasas 1 y 2 Activadas por Mitógeno (MAPK), en la ruta de MAPK. Se sabe que las quinasas Raf influncian y regulan la proliferación, diferenciación, supervivencia, transformación oncogénica y apoptosis celular. La isoforma B-Raf ha demostrado ser la forma más activa de Raf involucrada en señalización y clave en la propagación de la señalización de Ras.

30 Como se muestra a continuación en la Tabla 4, la ruta de señalización de MAPK está implicada en muchos cánceres humanos. Las mutaciones de Ras (activadas) se encuentran en 15% de todos los cánceres humanos. Las mutaciones de ERK (hiperactivadas) se encuentran en 30% de todos los cánceres humanos. Las mutaciones del oncogén asociadas con cáncer son comunes en diferentes miembros de esta ruta, por ejemplo la B-Raf mutante (V600E) se presenta aproximadamente en 70% de los melanomas, y aproximadamente en 12% del carcinoma de colon (Davies et al., ver más arriba; Yuen et al., ver más arriba y Brose et al., ver más arriba).

35 Tabla 4: Asociación entre las moléculas de señalización del mutante en la vía de las MAPK y el pobre resultado clínico

Indicación	Moléculas de señalización del mutante
Melanoma	B-Raf(V600E) (70%); N-Ras (15%)
Cáncer papilar de tiroides	B-Raf (V600E) (35-70%); H-,K-,N-Ras (60%)
Cáncer de ovario	B-Raf (V600E) (30%)

(continuación)

Indicación	Moléculas de señalización del mutante
Cáncer de colon	B-Raf (V600E) (12%); K-Ras (45%)
Cáncer pancreático	K-Ras (90%)
Cáncer de pulmón de NSC	K-Ras (35%)
ALL, AML	N-Ras (30%)
Ver Sebolt-Leopole y Herrera, Nature Reviews Cancer (4): 937 (2004).	

5 Como se indicó anteriormente en la Tabla 4, la forma mutante de B-Raf (V600E), que se activa, es un objetivo importante para el tratamiento del cáncer debido a que su expresión es un indicador de pobre pronóstico, es constitutivamente activa, y dirige diferentes tumores, incluyendo melanoma, cáncer papilar de tiroides, cáncer de ovario y cáncer de colon. Se ha demostrado previamente que inhibidores de quinasa Raf de tipo silvestre que también inhiben B-Raf mutante han demostrado ser promisorios como agentes terapéuticos en terapia contra el cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que el agotamiento de B-Raf mutante por parte de siARN perjudica la señalización y proliferación de ERK en líneas de células de melanoma (Dibb, N.J. et al., Nature Reviews Cancer (4): 718, 2004). Por lo tanto, es importante señalar que B-Raf mutante es inhibido incluso en forma más potente con el compuesto del Ejemplo 1 que la B-Raf de tipo silvestre, demostrando por lo tanto la utilidad del compuesto para la inhibición de Raf en el tratamiento de enfermedades mediadas por Raf incluido melanoma, cáncer de ovario, cáncer papilar de tiroides y cáncer de colon.

15 Ejemplo 83

Inhibición de la señalización de la quinasa B-Raf mutante con el compuesto del Ejemplo 1 en ensayos basados en la célula

1. Inhibición de la fosforilación de ERK

Métodos:

20 Dos líneas de células de melanoma, A375M (B-Raf mutante V600E), y SKMEL-28 (B-Raf mutante V600E) fueron utilizadas para medir el efecto inhibitor del compuesto del Ejemplo 1 en un ensayo basado en la célula. Se analizó la fosforilación de PERK después del tratamiento con diluciones seriales del compuesto del Ejemplo 1: {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina en células SKMEL-28 y en células A375M. Se determinaron los valores de EC₅₀ mediante el ajuste de los datos en una curva de cuatro parámetros.

Resultados:

Como se muestra a continuación en la Tabla 5, el compuesto del Ejemplo 1 inhibe la actividad de la quinasa B-Raf mutante (V600E) en células SKMEL-28 y en células A375M, medida por la disminución en fosfo-ERK.

30 Tabla 5: Efecto inhibitorio de compuestos del Ejemplo 1 en líneas de células de melanoma que expresan Raf-B mutante.

Línea de células de Raf-B mutante (V600E)	EC ₅₀ de inhibición de pERK del compuesto del Ejemplo 1
A375M	160 nM
SKMEL-28	100 nM

2. Inhibición de la fosforilación de MEK

Métodos:

Tres líneas de células de melanoma, A375M (B-Raf mutante V600E), SKMEL-2 (Raf de tipo silvestre, N-Ras mutante), y CHL-1 (Raf de tipo silvestre, Ras de tipo silvestre) fueron utilizadas para medir el efecto inhibitor del compuesto del Ejemplo 1 en un ensayo basado en la célula. Las tres líneas de células fueron incubadas a 37°C en suero fetal bovino al 0,1% con concentraciones de 0,1 µM, 0,5 µM, 1 µM, 5 µM y 10 µM del compuesto del Ejemplo 1. Después de 4 horas de incubación, se analizó la fosforilación de MEK por medio del análisis de transferencias de tipo Western.

Resultados:

Los resultados se muestran en las FIGURAS 6A, 6B y 6C. Como se muestra en la FIGURA 6A, el compuesto del Ejemplo 1 es un potente inhibidor de la señalización secuencia debajo de Raf en células A375M (FIG 6A), en células SKMEL-2 (FIG 6B) y en células CHL-1 (FIG 6C) en un rango de concentración de 0,1 µM a 10 µM.

3. Inhibición del crecimiento de células en forma independiente del anclaje

Con el propósito de verificar que la inhibición de Raf se traduce en actividad antiproliferativa, el compuesto del Ejemplo 1 fue analizado contra una variedad de líneas de células y aislados de tumor humano que crecieron en agar blando, como se enlista más adelante en la Tabla 6.

Ensayo de proliferación en agar blando: Para cada línea de células enlistada más adelante en la Tabla 6, se sembraron 500 células por 100 ml en placas Corning de 96 pozos fondo plano Ultra Low Attachment Micro (Corning #3474). Se añadió agarosa GTG SeaKem al 1% (50 µl/pozo) para complementar el medio, se permitió que se solidificara, y luego se añadieron 100 µl de medio completo a cada pozo. Se hicieron diluciones seriales del compuesto del Ejemplo 1: {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina en una concentración final de DMSO al 5% en medio libre de suero, y se añadieron 25 µl del compuesto diluido a cada pozo (concentración final de DMSO de 0,5%). Un pozo de control contenía DMSO al 0,5% DMSO sin compuesto fue incluido también en el ensayo. Después de 7 días de incubación de las células con el compuesto, se añadieron 25 µl de Azul de Alamar (Trek Diagnostic Systems #00-100) a cada pozo y se incubó a 37°C durante 4 horas. Se leyeron las placas con un lector de placas de fluorescencia, excitación a 530 nm, emisión a 590 nm. Los valores de EC₅₀ se determinaron ajustando los datos en una curva de cuatro parámetros.

El compuesto del Ejemplo 1 fue también analizado contra un panel de aislados tumorales humanos cultivados en agar blando (Oncotest, GmbH, Freiburg, Alemania). Se aislaron los tumores de pacientes y luego fueron pasados como piezas tumorales en ratones inmunocomprometidos y analizados utilizando los métodos descritos anteriormente.

Resultados: El compuesto del Ejemplo 1 tiene un potente efecto antiproliferativo sobre líneas de células y aislados tumorales humanos que expresan B-Raf mutante, K-Ras mutante y N-Ras mutante, como se muestra a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6: Ensayo de proliferación en agar blando: inhibición con el compuesto del Ejemplo 1

Líneas de células/aislados tumorales	Tipo	Mutación	EC ₅₀ del compuesto del ejemplo 1
WM1799 (línea de células)	Melanoma	B-Raf (V600E)	<0.0098 µM
WM983 (línea de células)	Melanoma	B-Raf (V600E)	0.016 µM
A375M (línea de células)	Melanoma	B-Raf (V600E)	0.032 µM
SK-MEL28 (línea de células)	Melanoma	B-Raf (V600E)	0.07 µM
HT-29 (línea de células)	Carcinoma Colorectal	B-Raf (V600E)	0.026 µM
Colo205 (línea de células)	Carcinoma Colorectal	B-Raf (V600E)	0.13 µM

(continuación)

Líneas de células/aislados tumorales	Tipo	Mutación	EC ₅₀ del compuesto del ejemplo 1
HCT-116 (línea de células)	Carcinoma Colorectal	K-Ras mutante	0.07 µM
LoVo (línea de células)	Carcinoma Colorectal	K-Ras mutante	0.016 µM
Aislado de tumor humano # 1	Melanoma	B-Raf (V600E)	0.055 µM
Aislado de tumor humano # 2	Melanoma	B-Raf (V600E)	0.20 µM
Aislado de tumor humano # 3	Melanoma	N-Ras (Q61K)	0.57 µM
Aislado de tumor humano # 4	Tumor Pancreático	K-Ras	1.27 µM
Aislado de tumor humano # 5	Tumor Colorectal	K-Ras	1.20 µM
Aislado de tumor humano # 6	Carcinoma de células renales	No determinado	>1 µM
Aislado de tumor humano # 7	Carcinoma de células renales	No determinado	>1 µM

5 La actividad inhibidora del compuesto del Ejemplo 1 sobre el panel amplio de líneas de células y aislados tumorales humanos mostrados anteriormente en la Tabla 6 demuestra la potente actividad antiproliferativa del compuesto en células tumorales que expresan B-Raf mutante. El compuesto mostró una potente inhibición contra las células de melanoma B-Raf mutante en el rango de <0,0098 a 0,07 µM. El compuesto mostró un grado similar de inhibición
10 contra las líneas de células colorectales de B-Raf mutante en el rango de 0,026 µM a 0,13 µM. El compuesto también demostró una potente actividad antiproliferativa en las dos células tumorales de carcinoma colorectal analizadas que expresan K-Ras mutante (0,07 µM a 0,016 µM), confirmando que la inhibición de B-Raf/c-Raf en el contexto de una mutación secuencia arriba de K-Ras conduce a actividad antiproliferativa.

15 Consistente con los resultados de las líneas de células descritas anteriormente, el compuesto del Ejemplo 1 sobre los aislados tumorales humanos demostró que la inhibición más potente contra los melanomas mutantes de B-Raf (EC₅₀ = 0,055 µM y 0,20 µM), seguido por el melanoma mutante de N-Ras (EC₅₀ = 0,57 µM). Un tumor pancreático y un tumor colorectal tenían un EC₅₀ en el rango de 1 µM. Los tumores restantes produjeron valores de EC₅₀ mayores a 1 µM. Los tumores humanos aislados de pacientes se cree que representan un modelo más preciso de la enfermedad que las líneas de células, debido a que los tumores se aíslan de pacientes y se pasaron como piezas de tumor en ratones inmunocomprometidos. Por lo tanto, no se seleccionan para crecimiento sobre plástico y mantienen algo de la arquitectura primaria del tumor.

20 Es interesante observar que el compuesto del Ejemplo 1 tiene la actividad inhibidora en un rango mayor a 1 µM en los aislados tumorales de carcinoma de células renales. Aunque no se determine el genotipo sobre estos tumores particulares, se sabe que los tumores de carcinoma renal no expresan típicamente Ras mutante o B-Raf mutante. Por lo tanto, el compuesto del Ejemplo 1 parece que inhibe específicamente las moléculas de señalización de la ruta MAPK, en particular moléculas de quinasa Raf y Ras.

25 **Ejemplo 84**

El tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 provoca remisión tumoral en el modelo de xenoinjerto de melanoma humano A375M (B-Raf V600E)

30 Métodos: se implantaron 3 X 10⁶ células de melanoma humano A375M en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad que pesaban aproximadamente 24g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 150 mm³ (17 días después del implante), los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos de nueve ratones cada uno y se inició el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral cada día durante 14 días ya sea solo con el vehículo, o con 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1, todo en un volumen de 0,1 mL. El compuesto del Ejemplo 1: se formuló {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-

iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il}-(4-trifluorometil-fenil)-amina en PEG al 100%. Se midió el volumen del tumor dos veces por semana utilizando calibradores digitales.

Análisis de transferencias tipo Western

5 A las 8 y 24 horas después de la 14^{ava} dosis, se sacrificaron los ratones, y se recolectaron los tumores y congelaron en forma instantánea. Se descongelaron los tumores congelados sobre hielo, se pesaron y luego se homogenizaron en amortiguador RIPA con minitabletas del cóctel inhibidor completo de proteasa libre de EDTA de Roche (2 tabletas por 25 mL de amortiguador), fenilmetilsulfonilfluoruro 1 mM (PMSF) y 1X Cóctel II Inhibidor de Fosfatasa Sigma, utilizando el Magna-lyser de Roche (2 x ciclos de 1 minuto a 6500 rpm a 4°C). Por cada 100 mg de tejido tumoral, se añadió 1 mL de amortiguador de lisis de RIPA. Se centrifugaron los homogenatos a 14K RPM durante 20 minutos en una microfuga a 4°C, seguido de homogenización adicional utilizando Qiagen Qiashredders (9K RPM durante 2 minutos a 4°C). Se determinó la concentración de proteína utilizando el ensayo de la proteína BCA de Pierce y luego se cargaron 20 mg of cada muestra por pozo en un gel de Tris-Glicina SDS-poliacrilamida. Después de PAGE, se transfirió la proteína a membranas de nitrocelulosa, se bloqueó (leche descremada en polvo al 5% en TBST) durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se la probó durante la noche a 4°C utilizando una dilución 1:1000 (en amortiguador de bloqueo) de anticuerpo anti-fosfo-ERK1/2 policlonal de conejo (Señalización Celular # 9101), anticuerpo anti-fosfo-MEK policlonal de conejo (Señalización Celular # 9121), anticuerpo anti-ERK1/2 policlonal de conejo (Señalización Celular # 9102) o anticuerpo anti-MEK policlonal de conejo (Señalización Celular # 9122). El análisis de la modulación de marcadores secuencia abajo fue hecho utilizando una dilución 1:1000 de anticuerpo anti-Bim (Chemicon, # AB17003), el clon 5D4 del anticuerpo anti-Ciclina D1 (Upstate, # 05-263), anticuerpo anti-p27Kip-1 (182 - 198) (Calbiochem, # 506127), anticuerpo anti-fosfo-AKT (S473) (Señalización Celular, # 9271), anticuerpo anti-fosfo-Akt (T308) (Señalización Celular # 9275), y anticuerpo anti-fosfo-total Akt (Señalización Celular # 9272).

25 Las membranas fueron luego lavadas 5 veces (5 minutos cada una) con TBST a temperatura ambiente y se añadió un anticuerpo anticonejo de cabra marcado con HRP en una dilución 1:5000 en todas las transferencias (en amortiguador de bloqueo) y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Las membranas fueron luego lavadas 5 veces (5 minutos cada una) con TBST, y se incubaron las membranas con Pierce Super-Signal durante 4 minutos, seguido de exposición sobre una película durante un rango de tiempo de exposición de 1 s a 20 minutos.

Resultados:

30 La FIGURA 7A es un gráfico que muestra una respuesta a la dosis en la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de melanoma humano A375M (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con una dosis oral de 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1. Como se muestra en la FIGURA 7A, el compuesto del Ejemplo1 tiene una potente actividad antitumoral en un perfil que depende de la dosis oral. Con una dosis oral de 100 mg/kg del compuesto, se observaron regresiones tumorales en 9/9 de los ratones analizados.

35 Los resultados de los análisis de transferencias tipo Western durante las 8 horas, y 24 horas después de la 14ava dosis de las dosis de 10 mg/kg, 30 mg/kg y 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 se muestran en la FIGURA 7B y en la FIGURA 7C, respectivamente. Los datos de transferencias tipo Western muestran que el compuesto inhibe la fosforilación de MEK con la dosis de 100 mg/kg (que induce regresión tumoral), y la inhibición de MEK se prolonga más de 24 horas después de la última dosis, como se muestra en la FIGURA 7C.

40 Como se muestra en la FIGURA 7D, el análisis de la modulación del biomarcador secuencia abajo en lisados tumorales 24 hrs después de la 14^{ava} dosis mostró un incremento en BIM (marcador de apoptosis) y p27Kip (marcador de detención del ciclo celular), y una disminución en Ciclina D (inhibición del ciclo celular). Estos resultados confirman que el compuesto del Ejemplo1 inhibe la señalización de Raf en la ruta de MAPK.

Ejemplo 85

El tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 inhibe el crecimiento del tumor de melanoma

45 El compuesto del Ejemplo 1 fue analizado por la actividad inhibidora en un modelo tumoral de melanoma MEXF276 (B-Raf mutante V600E) y en un modelo tumoral de melanoma MEXF1341 (B-Raf de tipo silvestre), N-Ras mutante (Q61K).

50 Métodos: Células tumorales MEXF276 de melanoma humano pasadas en forma serial (B-Raf mutante V600E) fueron implantadas en forma subcutánea en el costado posterior de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 65 mm³, los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor y se inició el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 {1-Metil- 5-[2- (5-trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il}-(4- trifluorometil- fenil)-amina. Ya que el

modelo MEXF276 es conocido por ser algo caquéctico, con alguna toxicidad esperada en los ratones de control no tratados, se utilizaron regímenes de dosificación intermitentes con el propósito de evitar una pérdida de peso corporal severa en los grupos tratados con el fármaco, de la siguiente manera. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral ya sea solo con el vehículo, o con el siguiente régimen de dosificación del compuesto del Ejemplo 1: 10 mg/kg los días 0, 2, 4, 6, 14, 16, y 20; con 30 mg/kg los días 0, 2, 14, 16, y 20; y con 100 mg/kg los días 0, 2, 14, 16, y 20.

Para el modelo MEXF1341, se implantaron células tumorales MEXF1341 de melanoma humano pasadas en forma serial en forma subcutánea en el costado posterior de ratones hembra Nu/Nu. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 78 mm³ los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor y se inició el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral ya sea solo con el vehículo, o con el siguiente régimen de dosificación del compuesto del Ejemplo 1: 10 mg/kg los días 0, 2, 4, 6, 10, 12, 18, y 20; 30 mg/kg los días 0, 2, 4, 6, 10, 12, 18, y 20; y 100 mg/kg los días 0, 2, 4, 6, 10, 12, y 20.

A las 4 horas después de la dosis final, los ratones de los modelos MEXF276 y MEXF1341 fueron sacrificados, y se recolectaron los tumores y se congelaron en forma instantánea. Los lisados de estos tumores fueron posteriormente analizados por medio de transferencias tipo Western por modulación del objetivo (pMEK) y modulación de los marcadores secuencia abajo (BIM, p27Kip y pAKT) como se describió anteriormente en el Ejemplo 84.

Resultados:

La FIGURA 8A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores cancerosos de melanoma MEXF276 (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1. Los resultados mostrados en la FIGURA 8A indican que el compuesto del Ejemplo 1 muestra una inhibición significativa en el crecimiento del tumor en aislados de MEXF276 con 10 mg/kg, y una regresión tumoral mayor o igual al 50% en 8/8 ratones con 30mg/kg y 100 mg/kg. El análisis de la fosforilación de pMEK (FIGURA 8B) y la modulación del biomarcador secuencia abajo en lisados tumorales (FIGURA 8C) confirma que la actividad de B-Raf mutante es inhibida en los tumores de MEXF276, como se demuestra por la disminución en fosfo-MEK en la FIGURA 8B. Como se muestra en la FIGURA 8C, se observó un incremento en BIM (marcador para apoptosis) y p27Kip (detención del ciclo celular), y una disminución de fosfo-AKT (señalización de la ruta de supervivencia), confirmando la inhibición de la actividad de la quinasa Raf en la ruta de MAPK.

La FIGURA 9A es un gráfico que muestra la inhibición promedio del crecimiento del tumor de tumores cancerosos de melanoma MEXF1341 (N-Ras Q61K) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1. Los resultados mostrados en la FIGURA 9A indican que el compuesto del Ejemplo 1 provocó una inhibición significativa del crecimiento del tumor (una inhibición hasta del 70%) en el modelo de tumor de melanoma N-Ras mutante MEXF1341 (N-Ras Q61K) con las dosis de 30 mg/kg y 100 mg/kg, pero no indujeron regresión tumoral. Como se muestra en la FIGURA 9B, el análisis del fosfo-MEK después del día 20 después del tratamiento con 100 mg/kg del compuesto no mostró una disminución observable en fosfo-MEK, en contraste con los resultados obtenidos con el modelo MEXF276 (B-Raf mutante). Además, aunque hubo alguna evidencia de que las moléculas de señalización en la ruta de MAPK secuencia abajo de Raf en el modelo MEXF1341 fueron afectadas, el efecto fue menos dramático que el observado en el modelo MEXF276. Por ejemplo, como se muestra en la FIGURA 9C, los niveles de p27Kip (detención del ciclo celular) se incrementaron en los grupos de 30 mg/kg y 100 mg/kg indicando la detención del crecimiento, y se observó un ligero incremento en el marcador apoptótico BIM. Por lo tanto, parece que el compuesto del Ejemplo 1 tiene una potente actividad en el modelo de xenoinjerto MEXF276 (B-Raf mutante), provocando regresión tumoral, y significativa, pero actividad menos potente en el modelo de xenoinjerto MEXF1341 (B-Raf de tipo silvestre, N-Ras mutante), provocando inhibición del crecimiento tumoral.

Ejemplo 86

El tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 inhibe el crecimiento tumoral de carcinoma colorectal humano

El compuesto del Ejemplo 1 fue analizado por la actividad inhibitoria en modelos de xenoinjerto de carcinoma colorectal HCT-116 (K-Ras mutante G13D), HT-29 (B-Raf V600E) y en el modelo de xenoinjerto de leucemia aguda MV4-11 (FLT3 ITD).

Métodos: 5 x 10⁶ células de carcinoma colorectal humano HCT-116 (K-Ras mutante G13D) fueron implantadas en forma subcutánea en el costado posterior de ratones hembra Nu/Un de 10 - 12 semanas de edad que pesan aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 212 mm³ se dosificaron los ratones por medio de una sonda oral ya sea solo con el vehículo, o con el siguiente régimen de dosificación del compuesto del Ejemplo 1: 10 mg/kg, 30 mg/kg y 100 mg/kg por medio de una sonda oral el día 1 y cada 2 días (q2d) para un total de 28 días. Se sacrificaron ratones satélites y se recolectaron los tumores a las 4 horas, 8 horas y 24 horas después de la 3ra dosis. Los lisados de estos tumores fueron posteriormente analizados por medio de transferencias de Western para modulación objetivo (pMEK) como se describió anteriormente en el Ejemplo 84.

Un segundo modelo de carcinoma colorectal humano, HT-29 (B-Raf V600E), fue analizado de la siguiente manera. 2 x 10⁶ células HT-29 fueron implantadas en forma subcutánea en el costado posterior de ratones hembra Nu/Un de 10 - 12 semanas de edad que pesan aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 167 mm³ se dosificaron los ratones por medio de una sonda oral ya sea solo con el vehículo, o con el siguiente régimen de dosificación del compuesto del Ejemplo 1: 10 mg/kg, 30 mg/kg y 100 mg/kg por medio de una sonda oral el día 1 y cada 2 días (q2d) para un total de 28 días.

Un modelo de xenoinjerto de leucemia monocítica aguda humana, MV4-11 (FLT3 ITD), fue analizado de la siguiente manera: 5 x 10⁶ células MV4-11 fueron implantadas en forma subcutánea en el costado posterior de ratones hembra Nu/Un de 10 - 12 semanas de edad que pesan aproximadamente 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 190 mm³ se dosificaron los ratones por medio de una sonda oral ya sea solo con el vehículo, o con el siguiente régimen de dosificación del compuesto del Ejemplo 1: 10 mg/kg, 30 mg/kg y 100 mg/kg por medio de una sonda oral el día 1 y cada 2 días (q2d) para un total de 16 días. Se sacrificaron ratones satélites y se recolectaron los tumores a las 4 horas después de la 3ra dosis. Los lisados de estos tumores fueron posteriormente analizados por medio de transferencias de Western para modulación objetivo (pMEK) como se describió anteriormente en el Ejemplo 84.

Resultados:

Los resultados para el estudio de HCT-116 se muestran en las FIGURAS 10A-D. La FIGURA 10A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de carcinoma colorectal HCT-116 (K-Ras G13D) en ratones cuando son tratados con 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1. Como se muestra en las FIGURAS 10B-10D, el análisis de la fosfo-MEK 4 horas (FIG 10B), 8 horas (FIG 10C) y 24 horas (FIG 10D) después de la 3era dosis mostró una disminución observable en fosfo-MEK.

La FIGURA 11 es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de carcinoma colorectal HT-29 (B-Raf V600E) en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1. Como se muestra en la FIGURA 11, la regresión tumoral fue observada con 30 mg/kg y 100 mg/kg.

Los resultados para el estudio de MV4-11 se muestran en las FIGURAS 12A-B. La FIGURA 12A es un gráfico que muestra la inhibición promedio de crecimiento del tumor de tumores cancerosos de leucemia monocítica aguda MV4-11 en ratones cuando se los trata con el compuesto del Ejemplo 1. Las células tumorales MV4-11 son dirigidas por la tirosina quinasa del receptor mutante (MV4;11, FLT3 ITD). Como se muestra, el compuesto del Ejemplo 1 provocó una inhibición significativa del crecimiento del tumor en el modelo MV-11, sin embargo, no hubo evidencia de regresión tumoral (FIGURA 12A), ni hubo una inhibición observable de la señalización de MEK (FIGURA 12B). Aunque sin querer restringirse a ninguna teoría en particular, en el modelo MV4-11 es probable que la eficacia de la inhibición de crecimiento tumoral es un resultado de la actividad antiangiogénica del compuesto, principalmente a través de la invención de VEGFR-2, como se describe más adelante en los EJEMPLOS 87 - 88.

Un resumen de los datos obtenidos a partir de la evaluación de la eficacia del compuesto del Ejemplo 1 en los modelos de melanoma, de carcinoma colorectal y de xenoinjerto de leucemia descritos anteriormente es suministrado a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7: Resumen de la Actividad del Compuesto del Ejemplo 1 en diferentes Modelos de xenoinjerto

Modelo de xenoinjerto	Genotipo	Volumen inicial del tumor	Dosis (mg/kg)	Cronograma	TGI/Regresión
A375M	B-Raf	100	10	qdx14	53% TGI
(melanoma)	(V600E)	mm ³		q2dx14	33% TGI

ES 2 374 451 T3

(continuación)

Modelo de xenoinjerto	Genotipo	Volumen inicial del tumor	Dosis (mg/kg)	Cronograma	TGI/Regresión			
			30	qdx14	78% TGI			
				q2dx14	81% TGI			
			100	qd	regresión			
				q2dx14	regresión			
				q3dx9	regresión			
				q4dx7	85% TGI			
MEXF-276 (melanoma)	B-Raf (V600E)	65 mm ³	10	Días 0,2,4,6,14,16,20	85% TGI			
			30	Días 0,2,14,16,20	regresión			
			100	Días 0,2,14,16,20	regresión			
HT29 (colorectal)	B-Raf (V600E)	1670 mm ³	10	q2dx14	12% TGI			
						30	q2dx14	regresión
						100	q2dx14	regresión
MEXF 1341 (melanoma)	N-Ras (wt/Q61K)	78 mm ³	10	Días 0,2,4,6,10,12,18,20	30% TGI			
							30	Días 0,2,4,6,10,12,18,20
			100	Días 0,2,4,6,10,12,20	71% TGI			

(continuación)

Modelo de xenoinjerto	Genotipo	Volumen inicial del tumor	Dosis (mg/kg)	Cronograma	TGI/Regresión
HCT - 116 (colorectal)	K-Ras (wt/G13D)	212 mm ³	10	q2dx14	33% TGI
			30	q2dx14	81 % TGI
			100	q2dx14	regresión
MV4; 11 (AML)	FLT3ITD	190 mm ³	10	q2dx7	41% TGI
			30	q2dx7	55% TGI
			100	q2dx7	79% TGI

- 5 A partir de los datos resumidos en la Tabla 7, como se muestra en las FIGURAS 6 - 12, y como se describe en los EJEMPLOS 82 - 86, el compuesto del Ejemplo 1 es eficaz en cada modelo de xenoinjerto analizado en el cual B-Raf es mutado, provocando regresión de tumores y modulación objetivo en todos los tres modelos analizados (A375M, MEXF276, y HT29).

Ejemplo 87:

Ensayos de inhibición de tirosina quinasa

10 1. Ensayos bioquímicos:

15 La actividad de la quinasa de una cantidad de proteínas tirosina quinasa fue medida suministrando ATP y un péptido o proteína apropiados que contienen un residuo aminoácido de tirosina para fosforilación, y analizando la transferencia de la unidad estructural de fosfato al residuo de tirosina. Las proteínas recombinantes correspondientes a los dominios citoplasmáticos de VEGFR2, PDGFR β , CSF-1R y c-Kit fueron obtenidas por medio de purificación de células de insecto Sf9 infectadas con el correspondiente vector de expresión baculovirus recombinante VEGFR2, PDGFR β , CSF-1R y c-Kit humano. Para cada ensayo, se diluyó en forma serial el compuesto del Ejemplo 1 {1-Metil-5-[2-(5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il}-(4-trifluorometil-fenil)-amina en DMSO y luego se lo mezcló con un amortiguador apropiado de reacción de quinasa más ATP (la concentración de ATP utilizada fue en o justo por debajo del respectivo valor de Km). La proteína quinasa y un sustrato apropiado de péptido biotinilado fueron añadidos para producir un volumen final de 50 - 100 μ L. Las reacciones fueron incubadas durante 1 - 3 horas a temperatura ambiente y luego detenidas por medio de la adición de 25 - 50 μ L de EDTA 45 mM, Hepes 50 mM pH 7,5. La mezcla de reacción detenida (75 μ L) fue transferida a una placa de microtitulación recubierta con estreptavidina (Boehringer Mannheim) e incubada durante 1 hora. El producto peptídico fosforilado fue medido con el sistema de fluorescencia resuelto en el tiempo DELFIA (Wallac o PE Biosciences), utilizando un anticuerpo anti-fosfotirosina PT66 marcado con Europio con la modificación de que el amortiguador del ensayo DELFIA fue complementado con MgCl₂ 1 mM para la dilución del anticuerpo. La fluorescencia resuelta en el tiempo fue leída en un fluorómetro para DELFIA Wallac 1232 o en un lector de señal múltiple PE Victor II. La concentración de cada compuesto para inhibición del 50% (IC₅₀) fue calculada empleando regresión no lineal utilizando el programa de análisis de datos XL Fit.

30 La quinasa VEGFR2 (0,05 μ g/mL) fue analizada en Hepes 50 mM pH 7.0, MgCl₂ 2 mM, MnCl₂ 10 mM, NaF 1 mM, ditiotreitil 1 mM (DTT), 1 mg/mL de albúmina de suero bovino (BSA), ATP 1 a 30 μ M, y sustrato de péptido biotinilado 0,25 μ M "GGGGQDGKDYIVLPI" (SEQ ID NO: 1).

35 Para el ensayo de la quinasa PDGFR, se utilizaron 120 mg/mL de enzima con las mismas condiciones amortiguadoras anteriores excepto por el cambio de las concentraciones del ATP y del sustrato peptídico por ATP 1.4 μ M, y sustrato peptídico biotinilado 0,25 μ M "GGGGQDGKDYIVLPI" (SEQ ID NO: 1).

La actividad de la quinasa de CSF-1R fue analizada en el amortiguador del ensayo (HEPES 50 mM pH 7.0, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 10 mM, BSA al 0,1%, DTT 1 mM, Tween al 0,01%, pH final 7,5), ATP 1 μM y sustrato peptídico biotinilado 50 nM "EEEEAYGWLNF" (SEQ ID NO: 2).

5 La actividad de la quinasa de c-Kit fue medida suministrando ATP y la proteína recombinante correspondiente al dominio citoplasmático del receptor c-Kit (obtenido de Proquinase). La proteína quinasa c-Kit (2 nM) y el sustrato peptídico biotinilado (1 μM) "GGLFDDPSWNVQNL" (SEQ ID NO: 3), fueron añadidos en amortiguador de la reacción más ATP (8 μM) para producir un volumen final de 100 μL. El amortiguador de la reacción para c-Kit era de HEPES 10 50 mM pH 7,5, NaF 1 mM, MgCl₂ 2 mM, MnCl₂ 10 mM y 1 mg/mL de BSA. Las reacciones fueron incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente y detenidas por medio de la adición de 50 μL de EDTA 45 mM, Hepes 50 mM pH 7,5. La mezcla de reacción detenida (75 μL) fue transferida a una placa de microtitulación recubierta con estreptavidina (Boehringer Mannheim) e incubada durante 1 hora. El producto peptídico fosforilado fue medido con el sistema de fluorescencia resuelto en el tiempo DELFIA (Wallac o PE Biosciences), utilizando un anticuerpo anti-15 fosfotirosina, PT66, marcado con Europio con la modificación de que el amortiguador del ensayo DELFIA fue complementado con MgCl₂ 1 mM para la detección del anticuerpo. Los valores de fluorescencia resuelta en el tiempo fueron determinados en un fluorómetro para DELFIA Wallac 1232 o en un lector de señal múltiple PE Victor II. La concentración del compuesto del Ejemplo 1 para inhibición del 50% (IC₅₀) fue calculada empleando regresión no lineal utilizando el programa de análisis de datos XL Fit.

Resultados: Como se muestra a continuación en la Tabla 8, el compuesto del Ejemplo 1 es un potente inhibidor de VEGFR-2, c-Kit, PDGFR-β y CSF-1R.

20 Tabla 8: Inhibición de tirosina quinasas con el compuesto del Ejemplo 1

Objetivo	IC ₅₀ bioquímico del compuesto del Ejemplo 1	EC ₅₀ basado en células del compuesto del Ejemplo 1
VEGFR-2	0,07 μM	0,03 μM
c-Kit	0,02 μM	1,1 μM
PDGFR-β	0,0032 μM	0,7 μM
CSF-1R	0,20 μM	ND

Los ensayos basados en células fueron también utilizados para medir la actividad del compuesto del Ejemplo 1 contra las moléculas objetivo mostradas en la Tabla 8 de la siguiente manera.

25 La modulación del objetivo en células HMVEC después de tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 mostró inhibición de la fosforilación de VEGFR-2 mediada por EGF con un EC₅₀ de 0,03 μM, medida por una disminución en fosfo-VEGFR por medio de transferencias tipo Western (no mostradas).

El análisis de la inhibición de c-Kit en células Mo7e después del tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 mostró la inhibición de la fosforilación de c-Kit con un EC₅₀ de 1,1 μM medido por una disminución en fosfo-c-Kit por ELISA.

30 El análisis de la inhibición de PDGFR-β en células MG63 después de tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1 mostró la inhibición de fosfo-PDGFR-β con un EC₅₀ de 0,7 μM medido por una disminución en fosfo-PDGFR-β por ELISA.

Ejemplo 88

Inhibición de angiogénesis

35 Para investigar adicionalmente el efecto del compuesto del Ejemplo 1 contra VEGFR-2, se evaluó el compuesto en un modelo de angiogénesis en Matrigel de CHO-VEGF.

Métodos: Se aclimataron 110 ratones Nu/Nu (n = 10/grupo) una semana antes del inicio del estudio. El día 1, 5 x 10⁶ células VEGF-CHO en 0,5 mL de Matrigel fueron inyectadas en forma subcutánea sobre la parte superior del abdomen de los ratones. El día 1, se les suministró a los ratones dosis orales de cualquiera de los vehículos, 10 mg/kg, 30 mg/kg o 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 con base en un cronograma de dosificación de qdx5.

Después de cinco días se removió el tapón de Matrigel de los ratones y se cuantificó la concentración de hemoglobina allí.

Resultados:

- 5 La FIGURA 13 es un gráfico que muestra la inhibición de angiogénesis mediada por VEGF en un modelo en Matrigel de CHO-VEGF después de tratamiento con 10 mg/kg, 30 mg/kg, y 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1. Como se muestra en la FIGURA 13, la dosificación del compuesto durante 5 días inhibió significativamente la angiogénesis mediada por VEGF.

Ejemplo 89

Efectos del cronograma de dosificación

- 10 Los estudios del cronograma de dosificación del compuesto del Ejemplo 1 fueron hechos en el modelo de xenoinjerto de melanoma humano A375M para evaluar la relación entre la inhibición de B-Raf mutante, la respuesta del tumor, y la concentración del compuesto concentración en plasma.

- 15 Se han establecido relaciones claras de respuesta a la dosis en el modelo A375M con el compuesto del Ejemplo 1, como se muestra en la FIGURA 7A. Los datos en la FIGURA 7A indican que el compuesto del Ejemplo1 induce regresión tumoral con 100 mg/kg suministrados en forma diaria, y la regresión tumoral está asociada con inhibición prolongada de B-Raf mutante (como se demuestra por medio de la disminución en fosfo-MEK en la FIGURA 7B). Sin embargo, en este cronograma de dosificación, el compuesto del Ejemplo1 no fue bien tolerado en ratones con niveles de dosis de 30 mg/kg y 100 mg/kg, ya que los ratones perdieron un promedio de 10% de su masa corporal de partida el día 14. Por lo tanto, la dosis más eficaz de 100 mg/kg fue evaluada adicionalmente como se describe más adelante.
- 20

Métodos:

- 25 Como en el Ejemplo 84, se implantaron 3×10^6 células de melanoma humano A375M en forma subcutánea en el costado derecho de ratones hembra Nu/Nu de 10 - 12 semanas de edad con peso aproximado de 24 g. Cuando el volumen promedio del tumor alcanzó aproximadamente 200 mm^3 , los ratones fueron asignados al azar por el volumen del tumor en cuatro grupos de nueve ratones cada uno y se inició el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 1. Los ratones fueron dosificados por medio de una sonda oral durante 32 días ya sea solo con el vehículo, o con el compuesto del Ejemplo 1 en el siguiente régimen de dosis: 100 mg/kg sobre un cronograma q2d, q3d o q4d durante 28 días.

- 30 En este estudio, se dosificaron grupos satélite de ratones que padecen de tumores con el propósito de controlar la modulación objetivo en los tumores. Se recolectaron tumores y plasma de los ratones en diferentes momentos siguiendo 5 dosis en el grupo q2d y 3 dosis en el grupo q4d. Se procesaron los tumores para análisis de transferencia tipo Western de niveles de fosfo-MEK como se describe en el Ejemplo 84, y se aisló plasma para la medición de los niveles de fármaco.

Resultados:

- 35 La FIGURA 14A es un gráfico que muestra la reducción promedio en el volumen del tumor de tumores de melanoma A375M en ratones cuando son tratados con 100 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 con un régimen de dosificación q2d, q3d, o q4d. Como se muestra en la FIGURA 14A, el compuesto del Ejemplo1 dosificado en forma oral a razón de 100 mg/kg sobre un cronograma q2d, q3d o q4d dio como resultado una eficacia significativa. El análisis de transferencias tipo Western mostrado en la FIGURA 14B indica que los tumores en los ratones tratados con el compuesto han disminuido los niveles de fosfo-MEK con relación a los controles tratados con el vehículo hasta 48 horas después de la dosis en las muestras de q2d. En las muestras de q4d, a las 72 horas únicamente uno de los tres tumores tenía menores niveles de fosfo-MEK y a las 96 horas todos los tumores tratados con el compuesto tenían niveles de fosfo-MEK comparables con los tumores tratados con el vehículo. Estos resultados son consistentes con los resultados obtenidos sobre el cronograma q2d, mostrado en la FIGURA 7B.
- 40
- 45 Como se muestra a continuación en la Tabla 9, los cronogramas q3d y q4d fueron mejor tolerados en los ratones del ensayo, medido por medio de la pérdida de peso.

Tabla 9: Estudio de la dosificación del xenoinjerto A375M con 100mg/mL del compuesto del Ejemplo 1

Cronograma de dosificación: (100mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 por dosis)	Pérdida de peso corporal promedio el día 28	TGI/Regresión
q2d	12%	Regresión del tumor por lo menos del 50% en 10/10 tumores
q3d	8%	Regresión del tumor por lo menos del 50% en 7/10 tumores
q4d	7%	Regresión por lo menos del 50% en 3/10 tumores

5 En conclusión, cuando se consideran al mismo tiempo los datos de modulación objetivo y los datos de eficacia, parece que el cronograma q2d o q3d da como resultado la regresión más eficiente del tumor con una tolerancia máxima por parte del huésped.

Ejemplo 90

Estudios de concentración en el plasma objetivo

10 Como se describió anteriormente en el Ejemplo 89, se tomaron muestras de suero para ratones tratados con el compuesto del Ejemplo 1. Se determinaron las concentraciones de fármaco de las muestras de suero, y se muestran los resultados como gráficos de concentración del compuesto versus tiempo en la FIGURA 15. Se puede estimar un umbral de concentración de fármaco para la modulación objetivo a partir de la FIGURA 15 considerando los datos de modulación objetivo mostrados en la FIGURA 14A y en la FIGURA 14B. Como se muestra en la FIGURA 14B, en todos los puntos de tiempo hasta 48 horas después de la dosificación, se redujeron los niveles de fosfo-MEK en los tumores tratados con el compuesto con relación a los tumores tratados con el vehículo, por lo tanto las correspondientes concentraciones de fármaco deben estar por encima de este umbral. Como se muestra en la FIGURA 14C, a las 72 y 96 horas después de la dosificación, no hubo modulación del objetivo, y por lo tanto las correspondientes concentraciones de fármaco deben estar por debajo de este umbral. En conclusión, se estima que el umbral del compuesto está aproximadamente entre 50.000 y 80.000 ng/mL, tal como aproximadamente 70.000 ng/mL (135 μ M).

20 Es interesante observar que la concentración objetivo en plasma en los estudios de xenoinjerto de ratón descritos anteriormente es aproximadamente 1000 veces más alta que la EC_{50} para la modulación objetivo en células A375M (16 μ M) *in vitro* (ver la Tabla 5). Esta diferencia puede ser explicada en gran medida por medio del enlazamiento de la proteína en el plasma debido a que el compuesto del Ejemplo 1 es mayor al 99,9% de la proteína enlazada en el plasma. Teniendo esto en cuenta, una estimación aproximada de la concentración libre de fármaco es aproximadamente de 0,135 μ M, que es cercana a la EC_{50} *in vitro* de 0,16 μ M determinada para la modulación objetivo en células A375M.

30 Con el propósito de explorar adicionalmente el efecto del enlazamiento de la proteína en plasma sobre la actividad del compuesto del Ejemplo 1, se llevaron a cabo una serie de experimentos *in vitro* en los cuales el compuesto fue previamente incubado en suero al 50% de ratón, rata, perro, mono o humano, y luego aplicado a células A375M o a células Mo7e. Se midieron los niveles de fosfo-MEK y fosfo-ERK en células A375M (para analizar la inhibición de B-Raf mutante) seguido por incubación durante la noche. Se midieron los niveles de fosfo-c-Kit en células Mo7e (para analizar la inhibición de c-Kit) seguido por 4 horas de incubación. Los resultados de estos análisis se resumen a continuación en la Tabla 10.

35

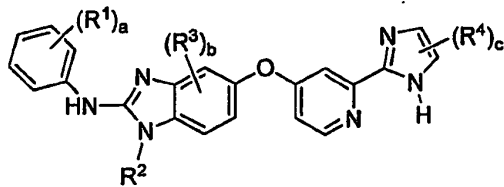
TABLA 10: Efecto del suero de diferentes especies sobre la actividad del compuesto del Ejemplo 1

Especies	EC ₅₀ de fosfo-MEK (μM)	EC ₅₀ de fosfo-ERK (μM)	EC ₅₀ de fosfo-c-c-Kit (μM)
Ratón	153 ± 15,5	160 ± 27	126 ± 22
Rata	24 ± 5,7	37 ± 7,0	29,6 ± 6.4
Perro	18 ± 2,4	20 ± 2,8	nd
Mono	9 ± 3,3	13 ± 0,9	nd
Humano	15 ± 1,5	20 ± 5,0	16 ± 1,5

5 Los datos en la Tabla 10 pueden ser utilizados para evaluar el enlazamiento relativo del compuesto del Ejemplo 1 con proteínas de plasma de diferentes especies y como base de un factor de corrección para extrapolar la concentración objetivo en plasma determinada en ratón con respecto a otras especies. Por ejemplo, con base en estos datos se podría estimar que la concentración objetivo en plasma en rata es aproximadamente 5 veces menor que en ratón, y la concentración objetivo en plasma en humanos es aproximadamente 10 veces menor que en ratón.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

en donde,

5 cada R^1 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , (alquil C_{1-6})sulfanilo, (alquil C_{1-6})sulfonilo,

cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

R^2 es alquilo C_{1-6} o halo(alquilo C_{1-6});

cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

10 cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, heterocicloalquilcarbonilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo C_{1-6} , carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , halo(alquilo C_{1-6}), alcoxi C_{1-6} , y halo(alcoxi C_{1-6});

15 a es 1, 2, 3, 4, o 5;

b es 0, 1, 2, o 3; y

c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo o éster.

20 2. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde cada R^1 se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de hidroxilo, cloro, flúor, bromo, metilo, etilo, propilo, butilo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, trifluorometilo, trifluoroetilo, trifluorometoxi, trifluoroetoxi, piperidinilo, alquilpiperidinilo C_{1-6} , piperazinilo, alquilpiperazinilo C_{1-6} , tetrahidrofurano, piridinilo, y pirimidinilo.

3. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde a es 1 o 2, y al menos un R^1 es halo(alquilo C_{1-6}).

25 4. Un compuesto de la Reivindicación 3 en donde al menos un R^1 es trifluorometilo.

5. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde R^2 es alquilo C_{1-6} .

6. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde R^2 es metilo o etilo.

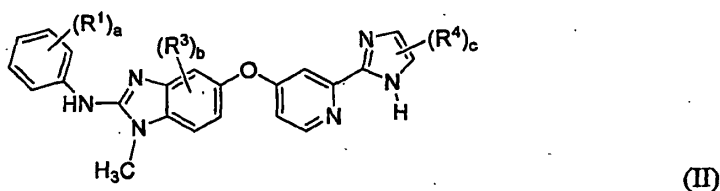
7. Un compuesto de la Reivindicación 4 en donde R^2 es metilo.

8. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde b es 0, y R^3 no está presente.

30 9. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde b es 1, y R^3 es alcoxi C_{1-6} .

10. Un compuesto de la Reivindicación 9 en donde R^3 es metoxi.

11. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde c es 1 o 2, y al menos un R^4 es halo(alquilo C_{1-6}).
12. Un compuesto de la Reivindicación 11 en donde al menos un R^4 es trifluorometilo.
13. Un compuesto de la Reivindicación 1 que tiene la fórmula (II):



5 en donde,

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquil C_{1-6})sulfanilo, (alquil C_{1-6})sulfonilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

cada R^3 se selecciona independientemente de entre halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

10 cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

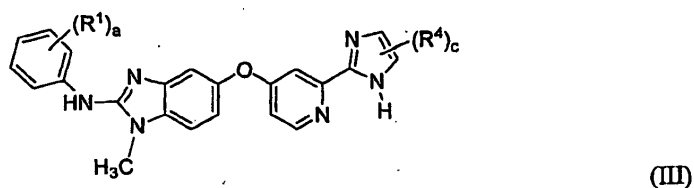
a es 1, 2, 3, 4, o 5;

15 b es 0, 1, 2, o 3; y

c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

14. Un compuesto de fórmula (III) :



20

en donde,

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , hidroxilo, halo, (alquilo C_{1-6})sulfanilo, (alquilo C_{1-6})sulfonilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, fenilo, y heteroarilo;

25 cada R^4 se selecciona independientemente de entre hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, aminocarbonilo, carbonitrilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilcarbonilo, fenilo, y heteroarilo;

en donde R^1 y R^4 pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , y alcoxi C_{1-6} ;

a es 1, 2, 3,4 o 5; y

c es 1 o 2;

o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

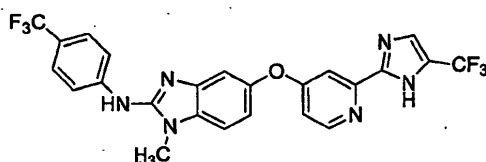
- 5 **15.** Un compuesto de la Reivindicación 14 en donde cada R¹ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de hidroxilo, cloro, flúor, bromo, metilo, etilo, propilo, butilo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, trifluorometilo, trifluoroetilo, trifluorometoxi, trifluoroetoxi, piperidinilo, alquilpiperidinilo C₁₋₆, piperazinilo, alquilpiperazinilo C₁₋₆, tetrahidrofuranilo, piridinilo, y pirimidinilo.
- 16.** Un compuesto de la Reivindicación 15 en donde a es 1 o 2, y al menos un R¹ es halo(alquilo C₁₋₆).
- 10 **17.** Un compuesto de la Reivindicación 16 en donde al menos un R¹ es trifluorometilo.
- 18.** Un compuesto de la Reivindicación 14 en donde a es 1.
- 19.** Un compuesto de la Reivindicación 18 en donde R¹ es trifluorometilo.
- 20.** Un compuesto de la Reivindicación 14 en donde c es 1 o 2, y al menos un R⁴ es halo(alquilo C₁₋₆).
- 21.** Un compuesto de la Reivindicación 20 en donde al menos un R⁴ es trifluorometilo.
- 15 **22.** Un compuesto de la Reivindicación 21 en donde c es 1.
- 23.** A compuesto seleccionado del grupo que consiste de {1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometilfenil) -amina,
- (2-Fluoro-5-piridin-3-il-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 20 (2-Fluoro-5-piridin-4-il-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- 25 {1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(3- trifluorometil- fenil) -amina,
- (3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 30 (4-Cloro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometoxi-fenil) -amina,
- 35 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2-[5-metil-4-(3-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina,
- (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -(1-metil-5-[2-[5-metil-4-(4-trifluorometilfenil) -1H-imidazol-2-il] -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -amina,

- Éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico,
- (2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-il) -metanol,
- 5 2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo,
- (3-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {1- Metil- 5-[2- (5- fenil-1H-imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]-1H-benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometilsulfanil- fenil) -amina,
- 10 (3- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- [4-Fluoro-3-(tetrahidro-furan-3-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol -2-il} -amina,
- (4-Bromo-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 15 (4-Fluoro-3-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometilsulfanilfenil) -amina,
- (2-Fluoro-5-isopropil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 20 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (5-tert-Butil-2-flúor-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 25 (2-Cloro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 2-{4-[2-(2-Fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carbonitrilo,
- (5-tert-Butil-2-cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 30 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1Hbenzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1Hbenzoimidazol-2-il} -amina,
- {1-Metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil-fenil) -amina,
- 35 (3-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-tert-Butil-fenil) -{1-metil-5-[2-(4-fenil-5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 40 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,

- (2-Cloro-5-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4- tert- Butil- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- metil- 4- fenil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- 5 {1-Metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(3-trifluorometil-fenil) -amina,
- (5-tert-Butil-2-flúor-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-metil-4-fenil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- [4-(4-Metil-piperazin-1-il) -fenil] -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 10 Éster metílico del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- Éster etílico del ácido 2-{4-[2-(2-cloro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -5-trifluorometil-1H-imidazol-4-carboxílico,
- (2-Fluoro-4-trifluorometil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- 15 (2-Cloro-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (2,5- Dimetoxi- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- (3,5- Dimetoxi- fenil) - {1- metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2-il} -amina,
- 20 {1- Metil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(2- trifluorometil- fenil) -amina,
- (2-Etil-fenil) -{1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- (4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[2-(2-flúor-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-il) -metanona,
- 25 (2-hidroxi-etil) -amida del ácido 2-{4-[2-(2-fluoro-5-trifluorometil-fenilamino)-1-metil-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- (1-Etil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il) -(2-flúor-5-trifluorometil fenil) -amina,
- 30 (2-Fluoro-5-trifluorometil-fenil) -{6-metoxi-1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -amina,
- {6-Metoxi-1-metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometil-fenil) -amina,
- (4-Etil-piperazin-1-il) -(2-{4-[1-metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-il) -metanona,
- 35 {1- Etil- 5-[2- (5- trifluorometil- 1H- imidazol- 2- il) -piridin- 4- iloxi]- 1H- benzoimidazol- 2- il} -(4- trifluorometil- fenil) -amina,
- (2-hidroxi-etilo)-amida del ácido 2-{4-[1-Metil-2-(4-trifluorometil-fenilamino)-1H-benzoimidazol-5-iloxi]-piridin-2-il} -3H-imidazol-4-carboxílico,
- 2-{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-ilamino}-5-trifluorometil fenol, y
- 40 3-{1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-ilamino}-6-trifluoro metil -fenol;

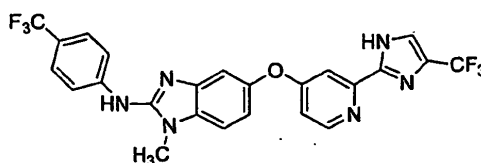
o un tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster de los mismos o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto, tautómero, estereoisómero, polimorfo, o éster.

24. Un compuesto de la Reivindicación 23 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en donde el compuesto tiene la fórmula:



5

o un tautómero del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero que tienen la fórmula:



25. Una composición que comprende un compuesto, tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 1 o 24 junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

10

26. Un compuesto, tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 1 o 24, para uso en un método para tratar un trastorno como el cáncer en un individuo humano o animal, que comprende la administración al individuo humano o animal de una composición que comprende al compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo.

15

27. El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 26 en donde la composición inhibe a la quinasa Raf o la quinasa B-Raf mutante.

28. El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 26 en donde el método comprende además la administración al individuo humano o animal de al menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer.

20

29. El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 28 en el cual al menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer es seleccionado de entre irinotecano, topotecano, gemcitabina, 5-fluorouracilo, leucovorin carboplatino, cisplatino, taxanos, tezacicabina, ciclofosfamida, alcaloides vinca, imatinib, antraciclinas, rituximab, trastuzumab.

25

30. El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 26 en donde un trastorno como el cáncer es melanoma.

31. El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 26 en donde un trastorno como el cáncer es cáncer de mama o cáncer de próstata.

32. Un compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 1 o 24 para uso en el tratamiento de cáncer.

30

33. Un compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 1 o 24, para uso en un método para inhibición de al menos una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en un individuo, o el tratamiento de una condición biológica mediada por una serina/treonina quinasa en la ruta de señalización de MAPK en un individuo, que comprende: administrar al individuo una composición que comprende al compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo.

35

- 34.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 33, en donde la composición inhibe a la quinasa Raf.
- 35.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 33, en donde la composición inhibe a la quinasa B-Raf mutante.
- 5 **36.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 33, en donde la condición biológica se selecciona del grupo que consiste de melanoma, cáncer papilar de tiroides, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, y leucemia.
- 10 **37.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 33, en donde la composición comprende {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin- 4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometilfenil) -amina o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo.
- 15 **38.** Un compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 1 o 24, para uso en un método para inhibición de un receptor tirosina quinasa en un individuo o el tratamiento de una condición biológica mediada por el receptor de tirosina quinasa en un individuo, que comprende la administración al individuo de una composición que comprende al compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo, en donde el receptor tirosina quinasa se selecciona de entre el grupo que consiste de VEGFR-2, FGFR-3, c-Kit, PDGF- β , y CSF-IR.
- 20 **39.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 38, en donde la condición biológica se selecciona de entre el grupo que consiste de leucemia de mastocitos, eritroleucemia, tumores de células germinales, carcinoma de pulmón de células pequeñas, tumores estromales gastrointestinales, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma, melanoma, mieloma múltiple, carcinoma de ovario, y carcinoma de mama.
- 25 **40.** El compuesto, tautómero, sal farmacéuticamente aceptable, o la sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo de la Reivindicación 39, en donde la composición comprende {1-Metil-5-[2- (5-trifluorometil-1H-imidazol-2-il) -piridin-4-iloxi]-1H-benzoimidazol-2-il} -(4-trifluorometilfenil) -amina o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero del mismo.

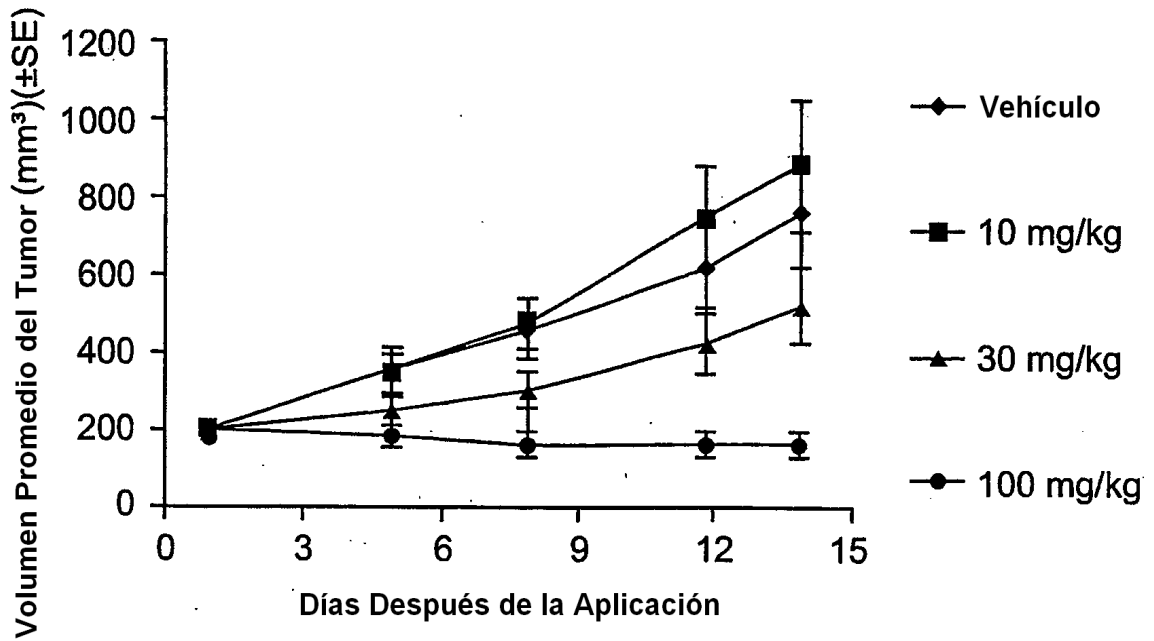


FIG. 1

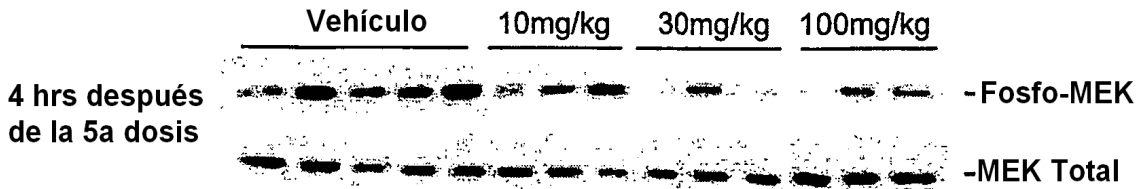


FIG. 2A

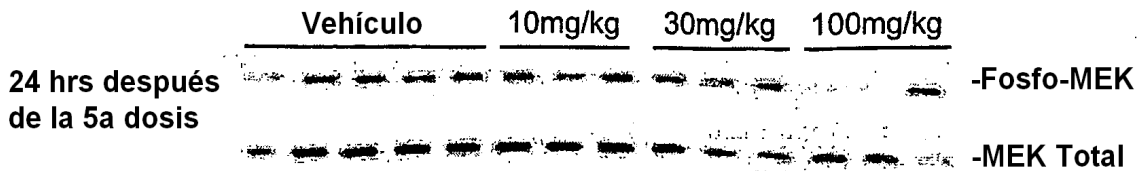


FIG. 2B

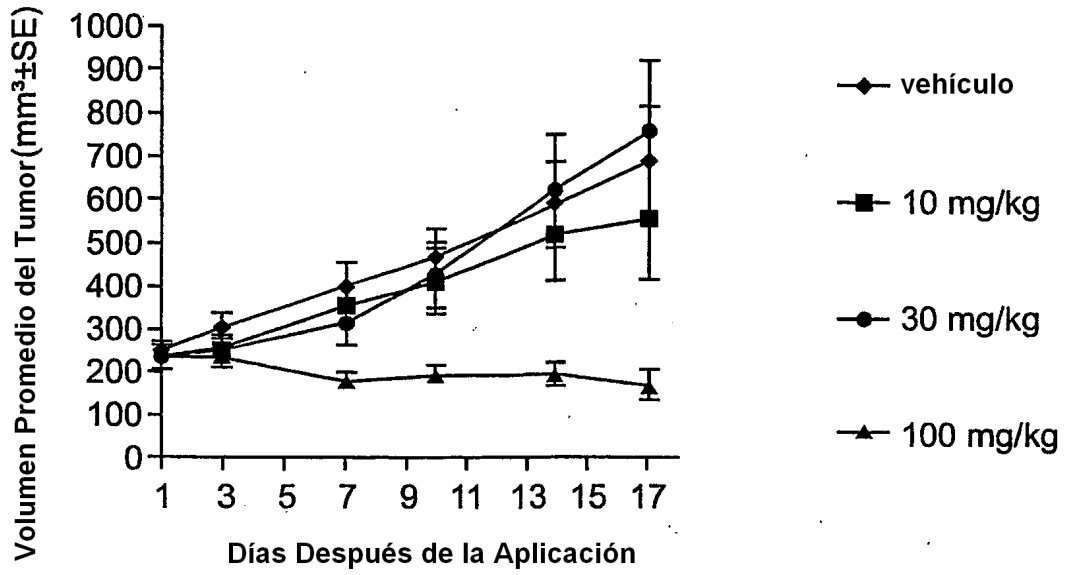


FIG. 3

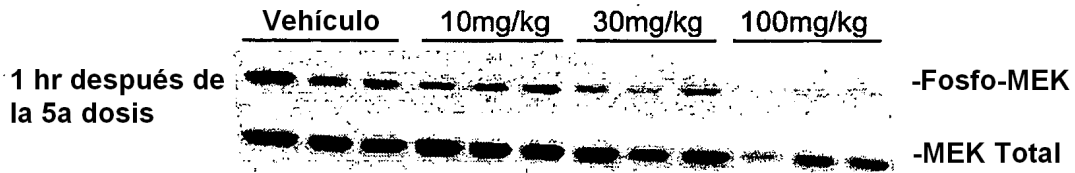


FIG. 4A

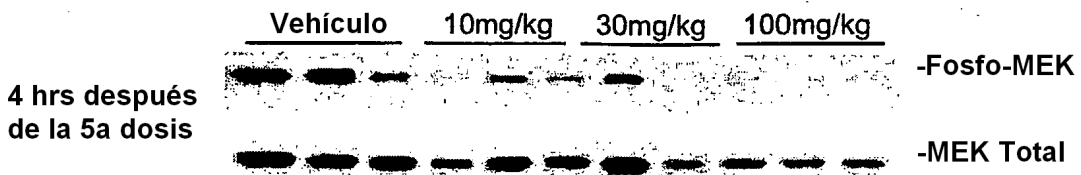


FIG. 4B

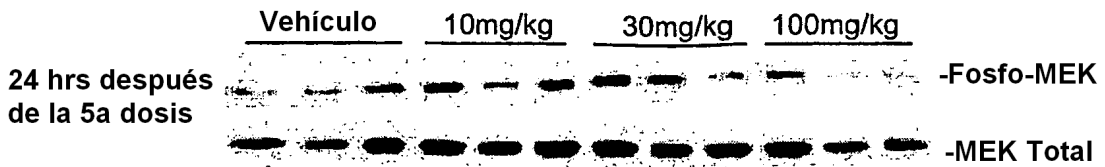


FIG. 4C

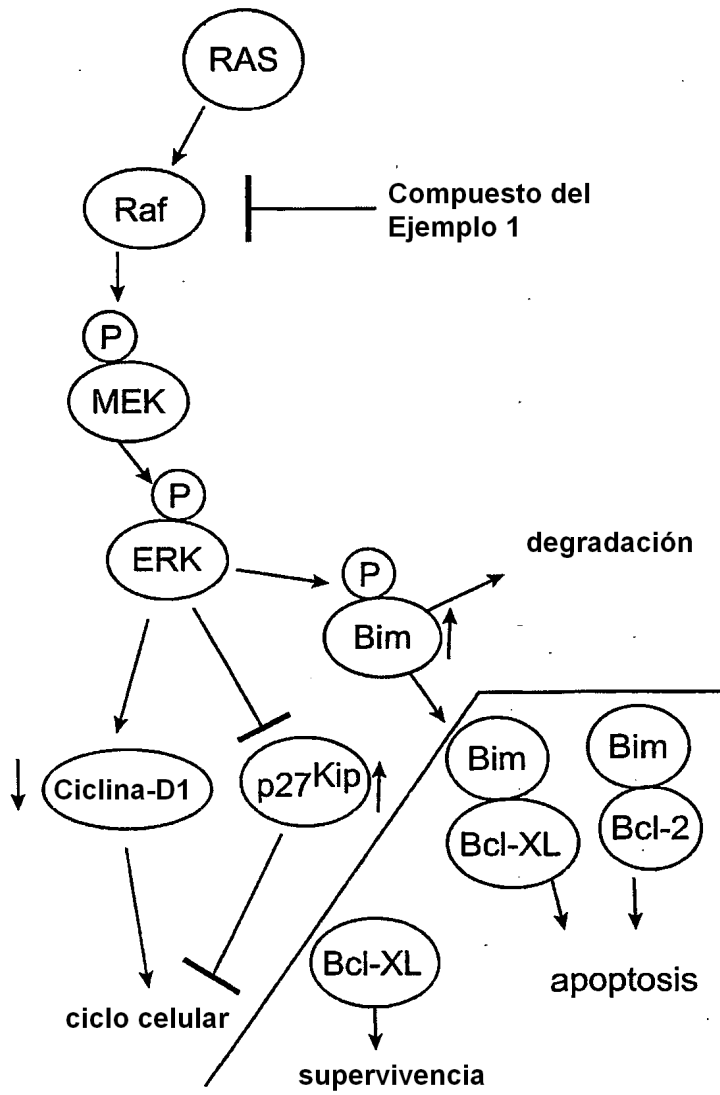


FIG. 5

FIG. 6A

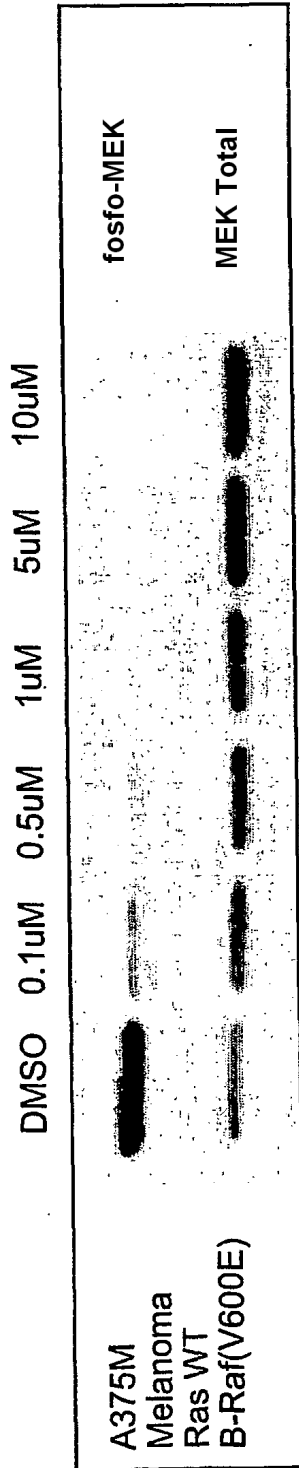


FIG. 6B

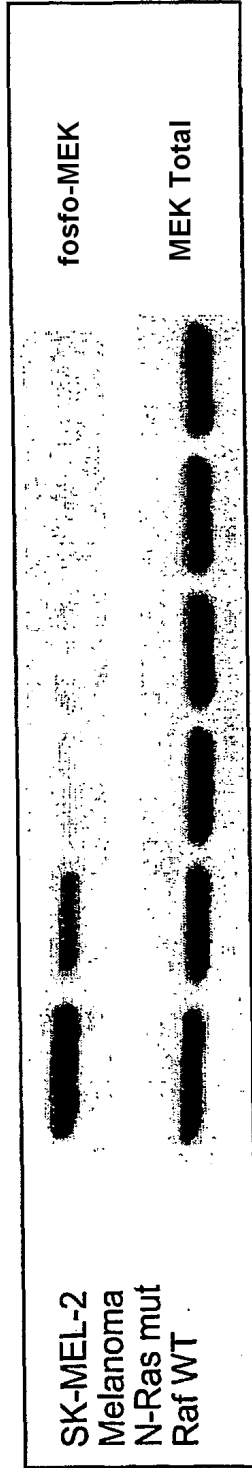
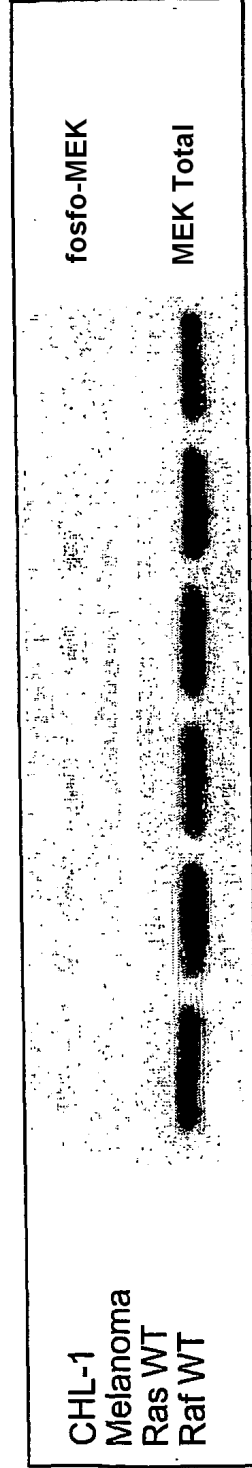


FIG. 6C



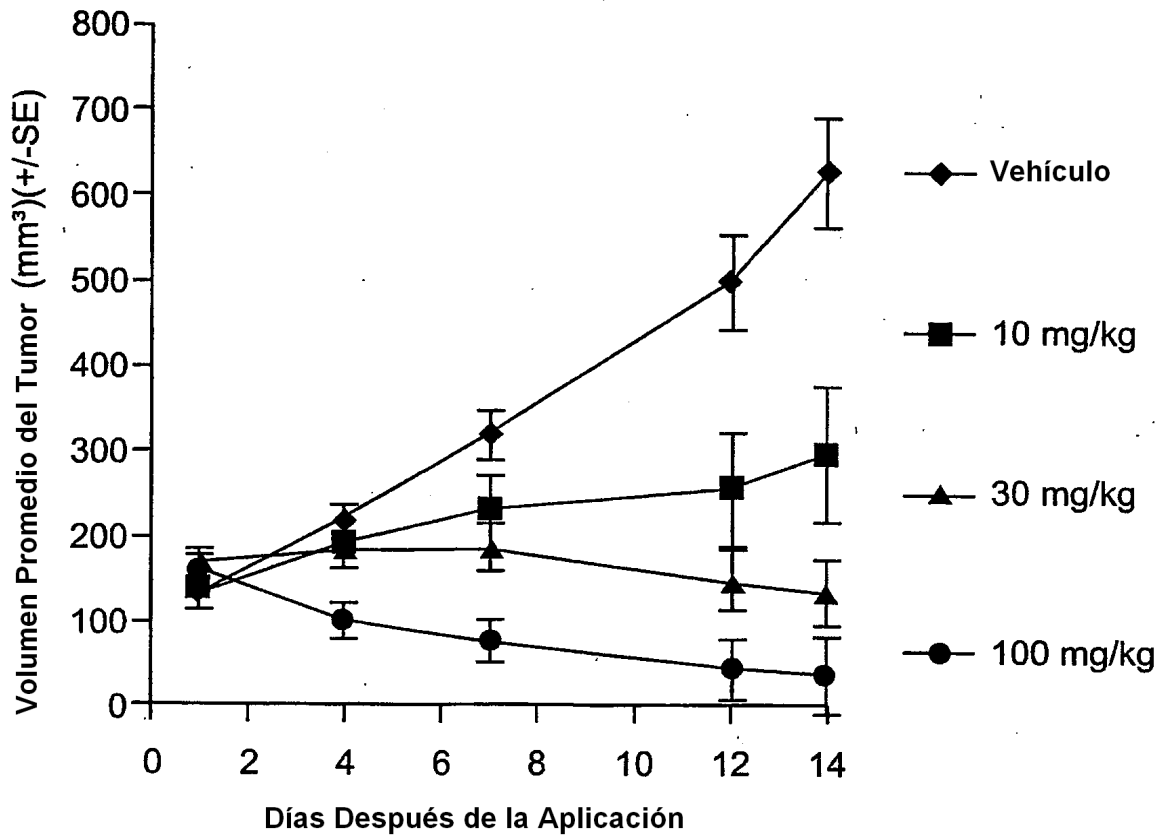


FIG. 7A

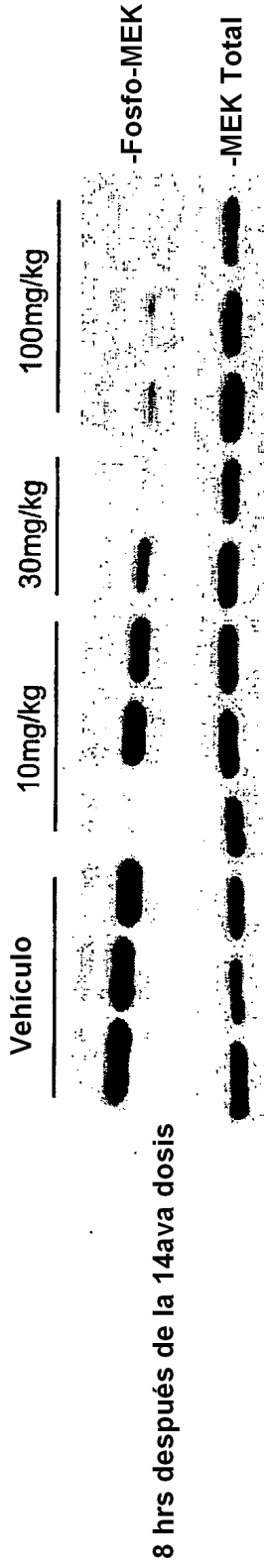


FIG. 7B

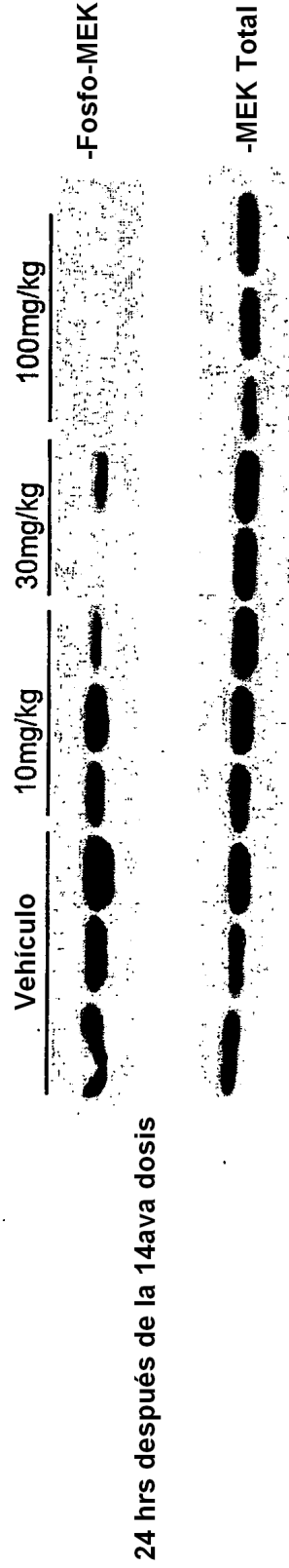


FIG. 7C

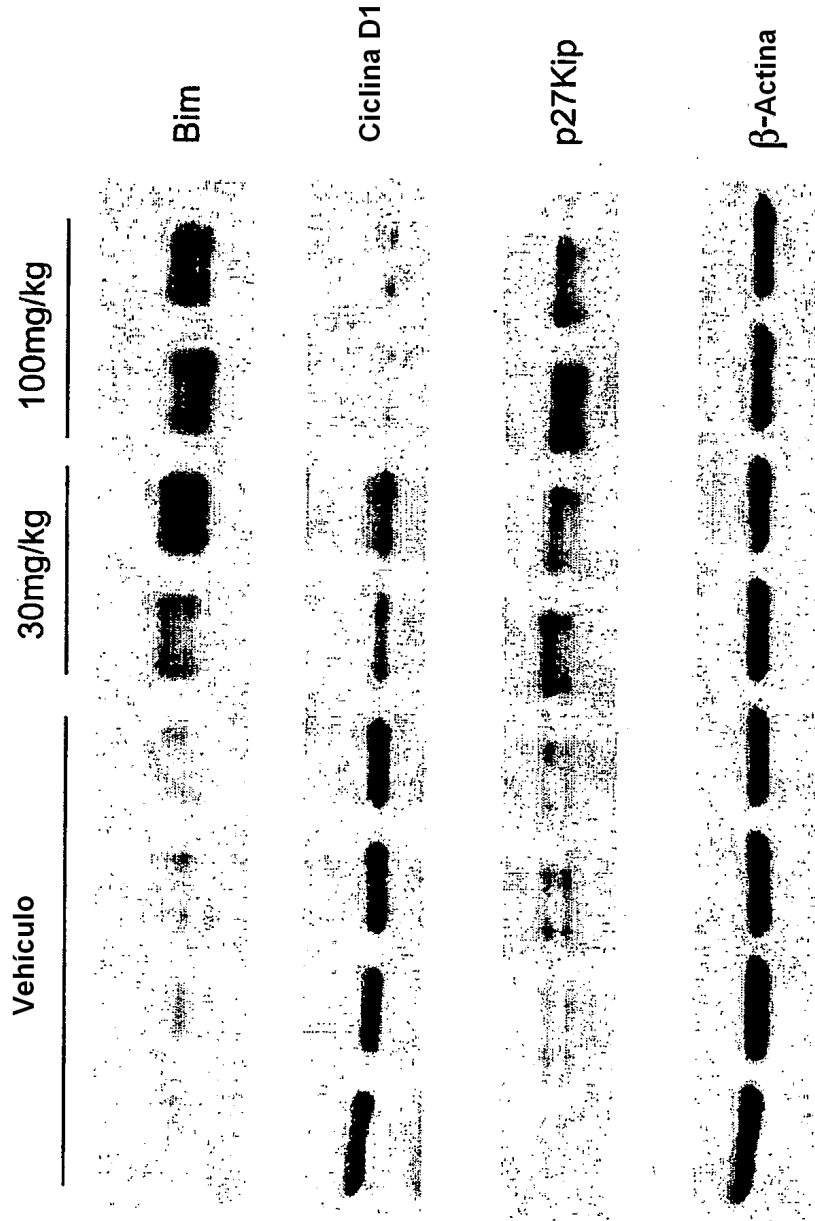


FIG. 7D

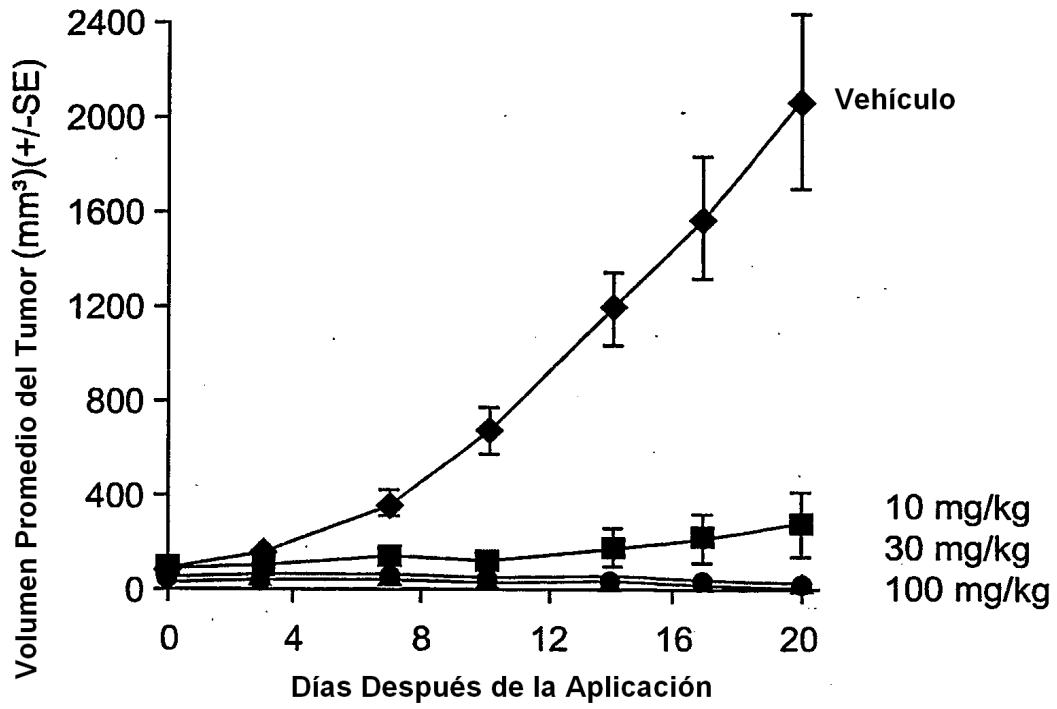


FIG. 8A

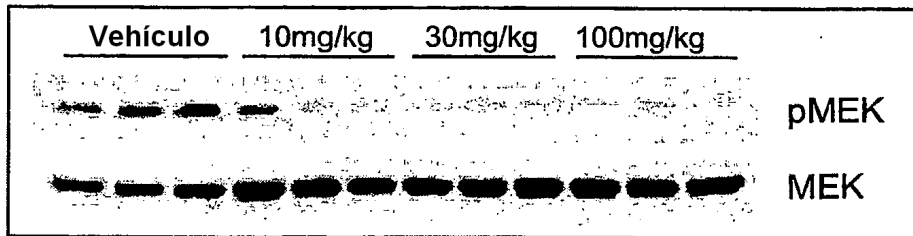


FIG. 8B

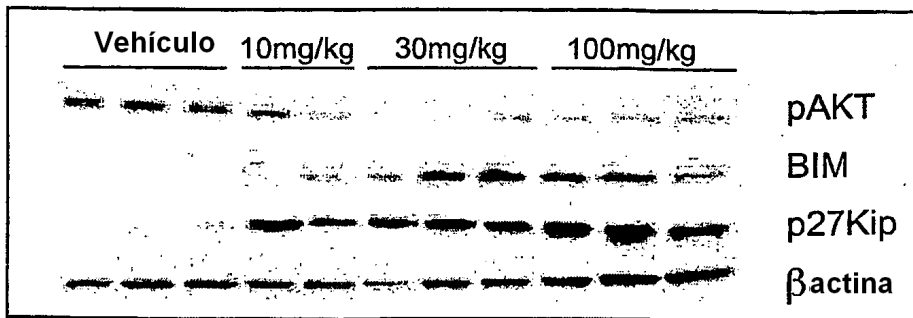


FIG. 8C

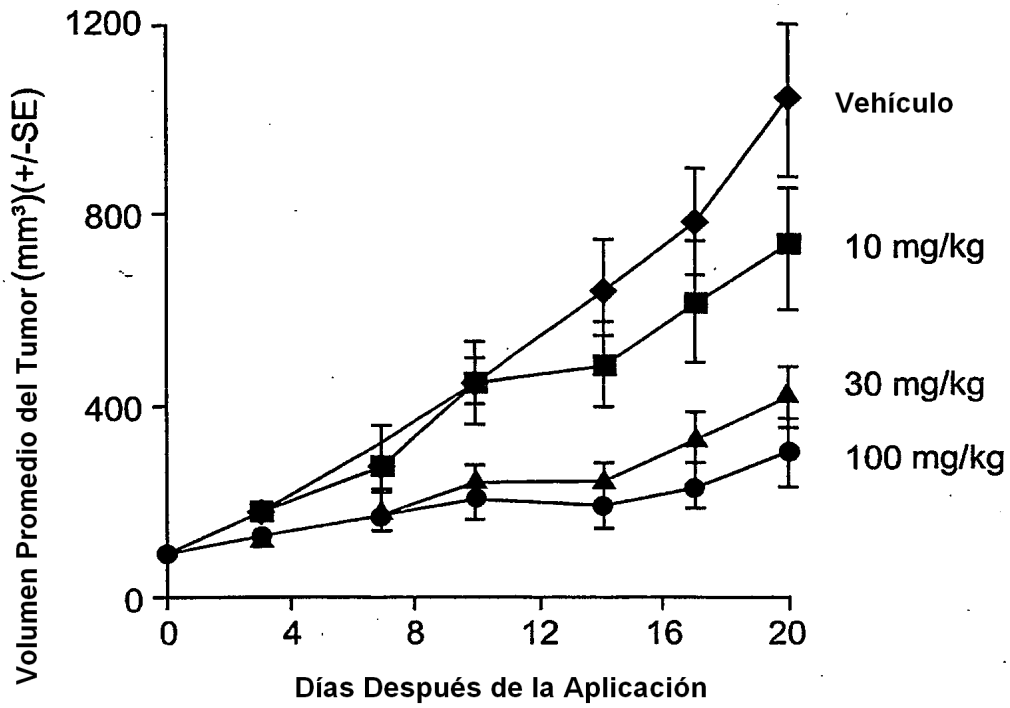


FIG. 9A

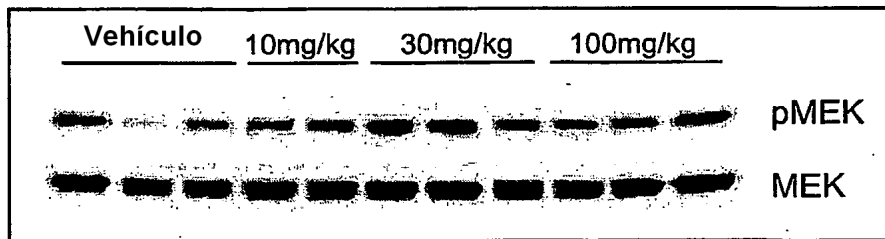


FIG. 9B

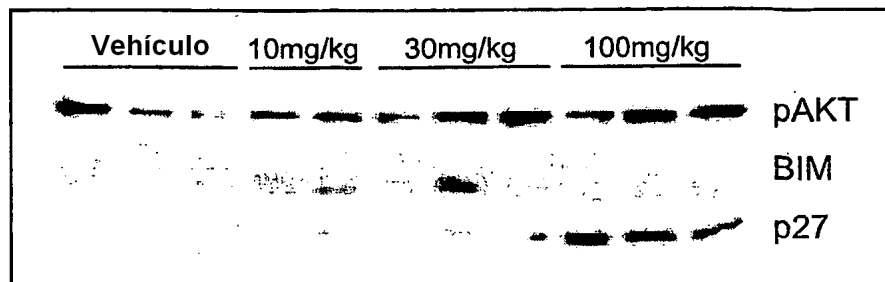


FIG. 9C

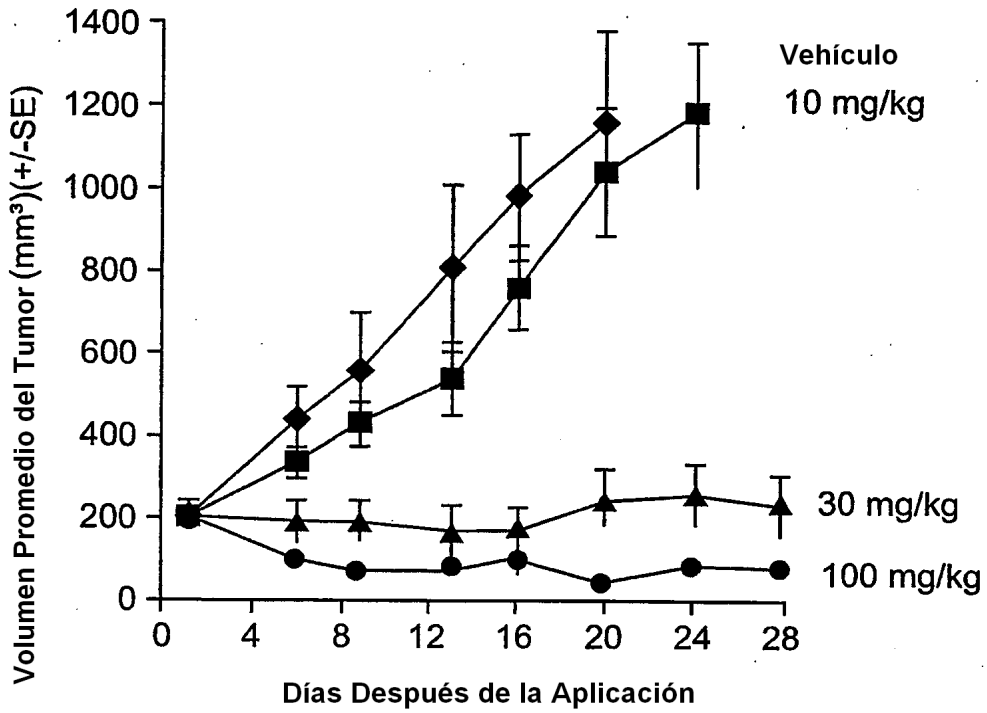


FIG. 10A

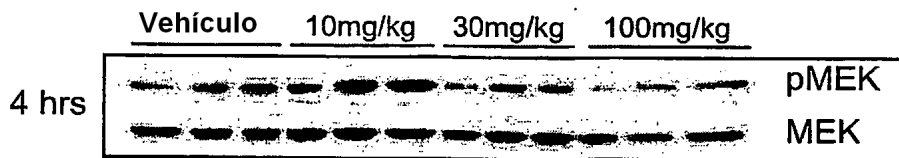


FIG. 10B

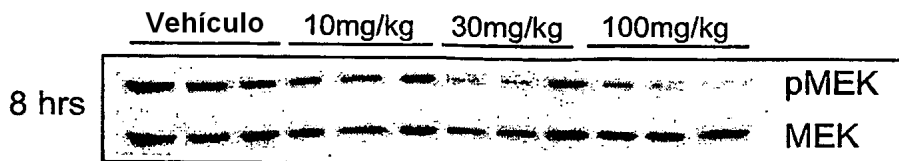


FIG. 10C

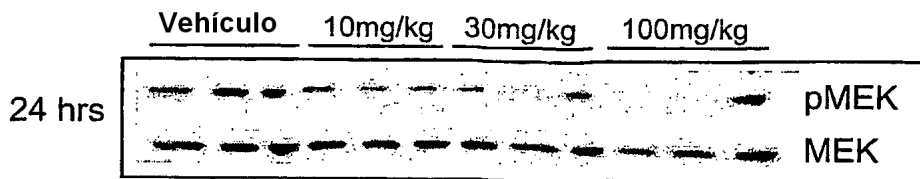


FIG. 10D

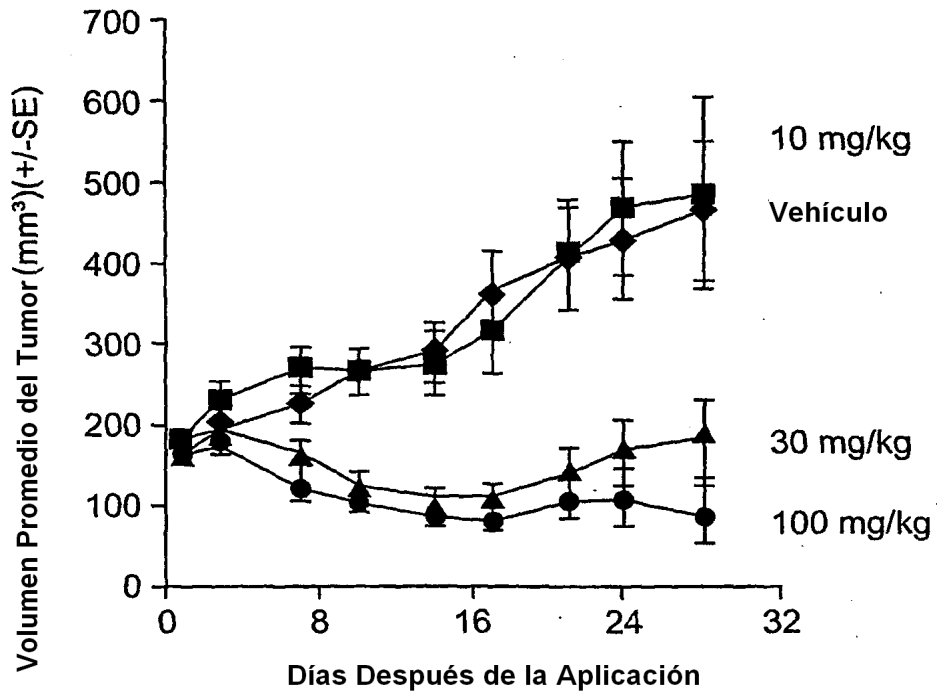


FIG. 11

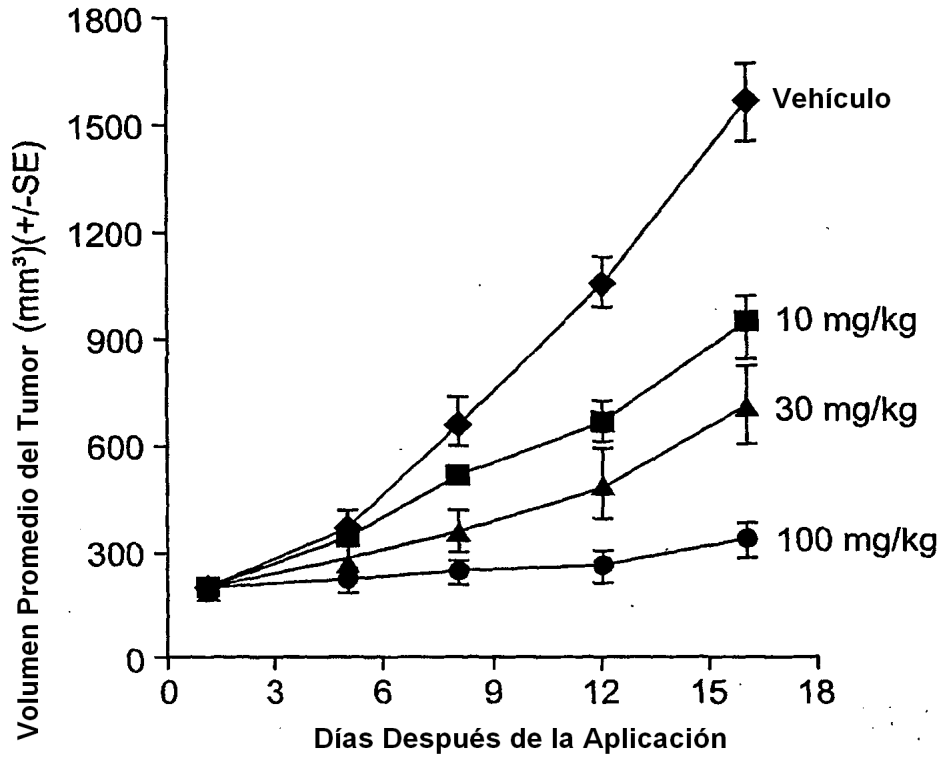


FIG. 12A

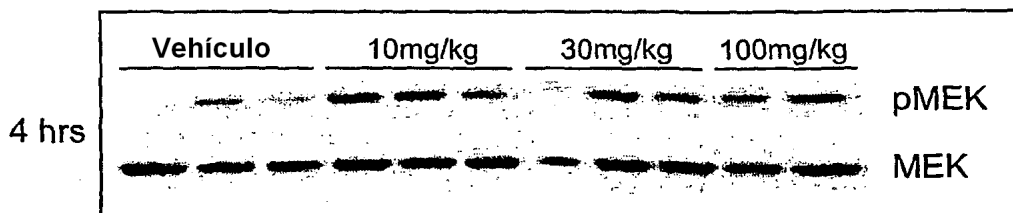


FIG. 12B

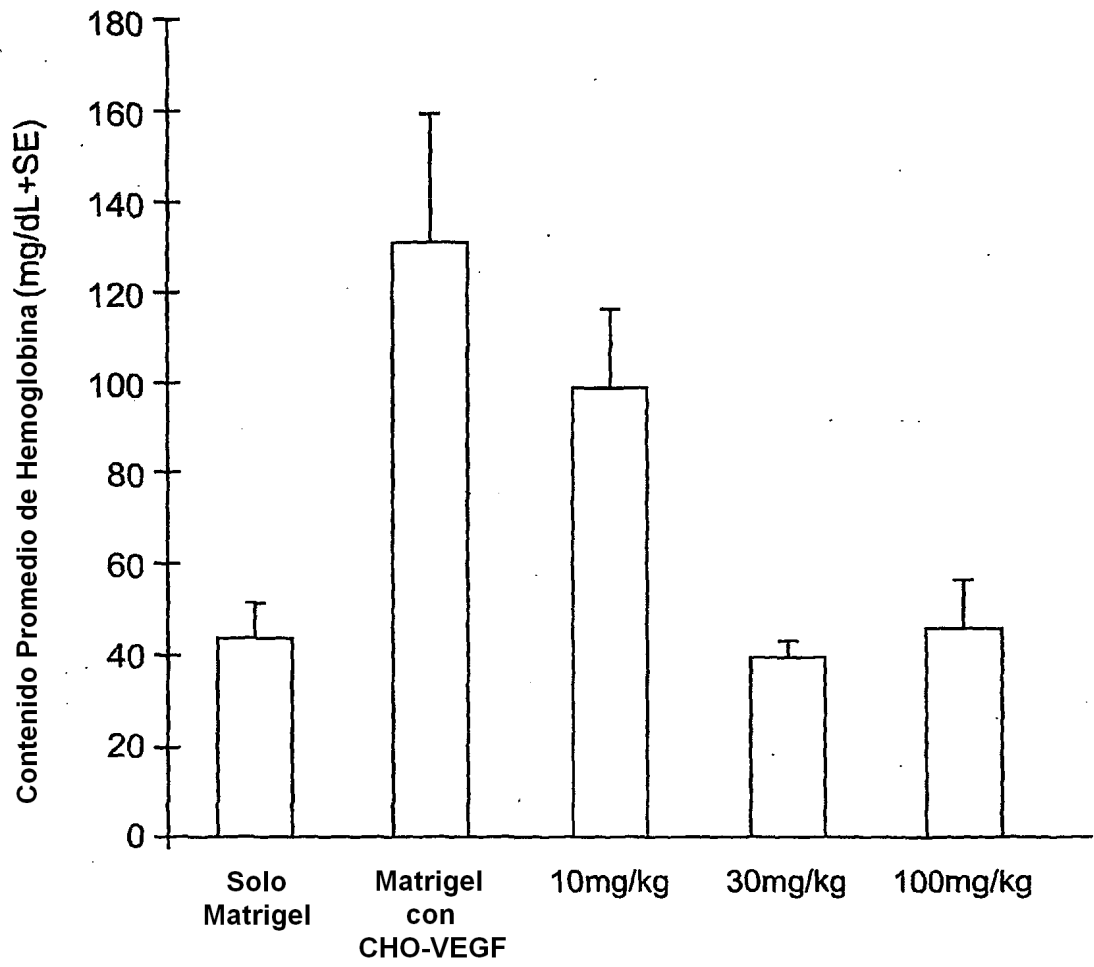


FIG. 13

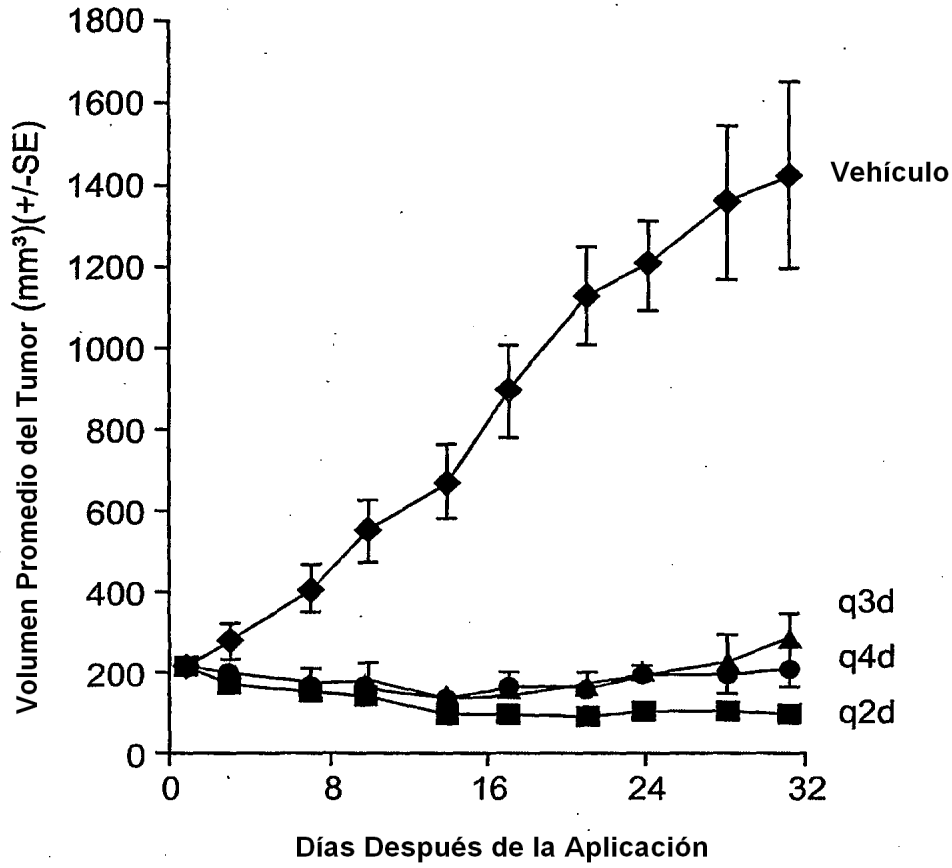


FIG. 14A

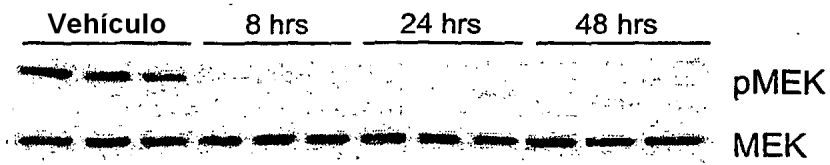


FIG. 14B

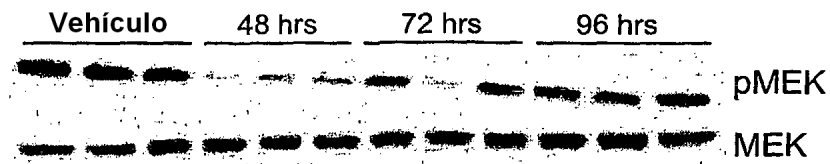


FIG. 14C

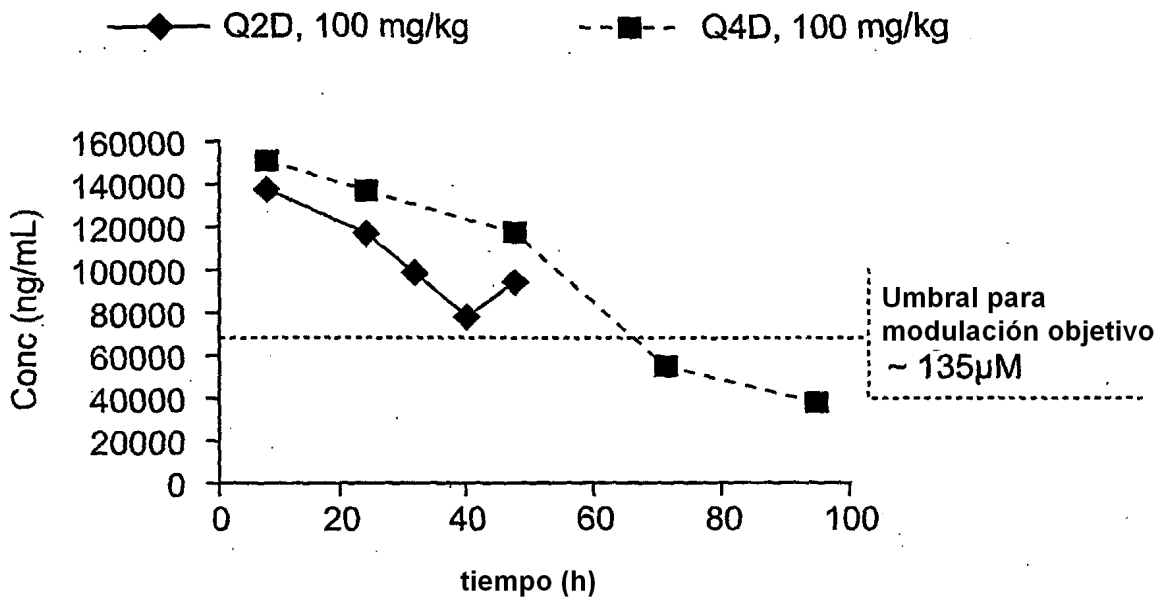


FIG. 15