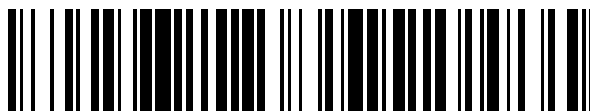


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 670**

51 Int. Cl.:
C07D 213/79 (2006.01)
C07D 213/81 (2006.01)
C07D 213/89 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05007027 .5**
96 Fecha de presentación: **11.02.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1580188**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.09.2005**

54 Título: **Aril ureas como inhibidores de cinasas**

30 Prioridad:
11.02.2002 US 354937 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2012

73 Titular/es:
BAYER HEALTHCARE, LLC
555 WHITE PLAINS ROAD
TARRYTOWN, NY 10591, US

72 Inventor/es:
Dumas, Jacques;
Scott, William J.;
Chien, Du-Schieng;
Lee, Wendy;
Bjorge, Susan;
Musza, Laszlo;
Nassar, Ala y
Riedl, Bernd

74 Agente/Representante:
Sugrañes Moliné, Pedro

ES 2 378 670 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

Aril ureas como inhibidores de cinasas

Campo de la invención

Esta invención se refiere a las aril ureas y a métodos para su síntesis. Los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de

- (i) enfermedades mediadas por raf, por ejemplo, cáncer,
- (ii) enfermedades mediadas por p38, tales como inflamación y osteoporosis, y
- (iii) enfermedades mediadas por VEGF, tales como trastornos de la angiogénesis.

Antecedentes de la invención

La activación de la ruta de transducción de señales de Ras indica una cascada de eventos que tienen un gran impacto sobre la proliferación, diferenciación y transformación celulares. La Raf cinasa, un efector posterior de Ras, es un mediador clave de estas señales desde receptores de superficie celular hasta el núcleo celular (Lowy, D. R.; Willumsen, B. M. *Ann. Rev. Biochem.* 1993, 62, 851; Bos, J. L. *Cancer Res.* 1989, 49, 4682). Se ha demostrado que la inhibición del efecto de ras activa inhibiendo la ruta de señalización de la raf cinasa mediante la administración de anticuerpos de desactivación de la raf cinasa o mediante la coexpresión de raf cinasa negativa dominante o MEK negativa dominante, el sustrato de raf cinasa, conduce a la reversión de células transformadas al fenotipo normal de crecimiento (véase: Daum *et al.* *Trends Biochem. Sci.* 1994, 19, 474-80; Fridman *et al.* *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 30105-8. Kolch *et al.* (*Nature* 1991, 349, 426-28) han indicado además que la inhibición de la expresión de raf mediante ARN antisentido bloquea la proliferación celular en oncogenes asociados a la membrana. De forma similar, la inhibición de la raf cinasa (mediante oligodesoxinucleótidos antisentido) se ha correlacionado *in vitro* e *in vivo* con la inhibición del crecimiento de una variedad de tipos de tumores humanos (Monia *et al.*, *Nat. Med.* 1996, 2, 668-75). Por tanto, las moléculas pequeñas inhibitoras de la actividad Raf cinasa son importantes agentes para el tratamiento del cáncer (Naumann, U.; Eisenmann-Tappe, I.; Rapp, U. R. *Recent Results Cancer Res.* 1997, 143, 237; Monia, B. P.; Johnston, J. F.; Geiger, T.; Muller, M.; Fabbro, D. *Nature Medicine* 1996, 2, 668).

Se ha mostrado que la inhibición de p38 inhibe tanto la producción de citocinas (por ejemplo, TNF α , IL-1, IL-6, IL-8) como la producción de enzimas proteolíticas (por ejemplo, MMP-1, MMP-3) *in vitro* y/o *in vivo*. La proteína activada por mitógenos (MAP) cinasa p38 está implicada en las rutas de señalización de IL-1 y TNF (Lee, J. C.; Laydon, J. T.; McDonnell, P. C.; Gallagher, T. F.; Kumar, S.; Green, D.; McNulty, D.; Blumenthal, M. J.; Heys, J. R.; Landvatter, S. W.; Strieker, J. E.; McLaughlin, M. M.; Siemens, I. R.; Fisher, S. M.; Livi, G. P.; White, J. R.; Adams, J. L.; Yound, P. R. *Nature* 1994, 372, 739).

Estudios clínicos han relacionado la producción y/o la señalización de TNF α con diversas enfermedades, incluyendo artritis reumatoide (Maini. *J. Royal Coll. Physicians London* 1996, 30, 344). Además, se han implicado niveles excesivos de TNF α en una amplia variedad de enfermedades inflamatorias y/o inmunomoduladoras, incluyendo fiebre reumática aguda (Yegin *et al.* *Lancet* 1997, 349, 170), resorción ósea (Pacifci *et al.* *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1997, 82, 29), osteoporosis postmenopáusica (Pacifci *et al.* *J. Bone Mineral Res.* 1996, 11, 1043), septicemia (Blackwell *et al.* *Br. J. Anaesth.* 1996, 77, 110), septicemia gram negativa (Debets *et al.* *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989, 308, 463), choque séptico (Tracey *et al.* *Nature* 1987, 330, 662; Girardin *et al.* *New England J. Med.* 1988, 319, 397), choque endotóxico (Beutler *et al.* *Science* 1985, 229, 869; Ashkenasi *et al.* *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 10535), síndrome de choque tóxico, (Saha *et al.* *J. Immunol.* 1996, 157, 3869; Lina *et al.* *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1996, 13, 81), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Anon. *Crit. Care Med.* 1992, 20, 864), enfermedades inflamatorias del intestino (Stokkers *et al.* *J. Inflamm.* 1995-6, 47, 97), incluyendo enfermedad de Crohn (van Deventer *et al.* *Aliment. Pharmacol. Therapeu.* 1996, 10 (Sup. 2), 107; van Dullemen *et al.* *Gastroenterology* 1995, 109, 129) y colitis ulcerosa (Masuda *et al.* *J. Clin. Lab. Immunol.* 1995, 46, 111), reacciones de Jarisch-Herxheimer (Fekade *et al.* *New England J. Med.* 1996, 335, 311), asma (Amrani *et al.* *Rev. Malad. Respir.* 1996, 13, 539), síndrome de dificultad respiratoria del adulto (Roten *et al.* *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991, 143, 590; Suter *et al.* *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992, 145, 1016), enfermedades fibróticas pulmonares agudas (Pan *et al.* *Pathol. Int.* 1996, 46, 91), sarcoidosis pulmonar (Ishioka *et al.* *Sarcoidosis Vasculitis Diffuse Lung Dis.* 1996, 13, 139), enfermedades respiratorias alérgicas (Casale *et al.* *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1996, 15, 35), silicosis (Gossart *et al.* *J. Immunol.* 1996, 156, 1540; Vanhee *et al.* *Eur. Respir. J.* 1995, 8, 834), neumoconiosis de los trabajadores del carbón (Borm *et al.* *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988, 138, 1589), lesión alveolar (Horinouchi *et al.* *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1996, 14, 1044), insuficiencia hepática (Gantner *et al.* *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1997, 280, 53), enfermedad hepática durante inflamación aguda (Kim *et al.* *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 1402), hepatitis alcohólica aguda (Bird *et al.* *Ann. Intern. Med.* 1990, 112, 917), malaria (Grau *et al.* *Immunol. Rev.* 1989, 112, 49; Taverne *et al.* *Parasitol. Today* 1996, 12, 290), incluyendo malaria por *Plasmodium falciparum* (Perlmann *et al.* *Infect. Immunit.* 1997, 65, 116) y malaria cerebral (Rudin *et al.* *Am. J. Pathol.* 1997, 150, 257), diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM; Stephens *et al.* *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 971; Ofei *et al.* *Diabetes* 1996, 45, 881), insuficiencia cardiaca congestiva (Doyama *et al.* *Int. J. Cardiol.* 1996, 54, 217; McMurray *et al.* *Br. Heart J.* 1991, 66, 356), daño tras cardiopatía (Malkiel *et al.* *Mol. Med.* Today 1996, 2, 336), aterosclerosis (Parums *et al.* *J. Pathol.* 1996, 179, A46), enfermedad de Alzheimer (Fagarasan *et al.* *Brain Res.* 1996, 723, 231; Aisen *et al.* *Gerontology* 1997, 43, 143), encefalitis aguda (Ichiyama *et al.* *J. Neurol.* 1996, 243, 457), lesión cerebral (Cannon *et al.* *Crit. Care Med.* 1992, 20,

1414; Hansbrough *et al.* Surg. Clin. N. Am. 1987, 67, 69; Marano *et al.* Surg. Gynecol. Obstetr. 1990, 170, 32), esclerosis múltiple (M.S.; Coyle. Adv. Neuroimmunol. 1996, 6, 143; Matusевич *et al.* J. Neuroimmunol. 1996, 66, 115), incluyendo desmielinización y pérdida de oligodendrocitos en esclerosis múltiple (Brosnan *et al.* Brain Pathol. 1996, 6, 243), cáncer avanzado (MucWierzgon *et al.* J. Biol. Regulators Homeostatic Agents 1996, 10, 25), cánceres malignos linfoides (Levy *et al.* Crit. Rev. Immunol. 1996, 16, 31), pancreatitis (Exley *et al.* Gut 1992, 33, 1126) incluyendo complicaciones sistémicas en pancreatitis agudas (McKay *et al.* Br. J. Surg. 1996, 83, 919), cicatrización de heridas afectada en infección, inflamación y cáncer (Buck *et al.* Am. J. Pathol. 1996, 149, 195), síndromes mielodisplásicos (Raza *et al.* Int. J. Hematol. 1996, 63, 265), lupus eritematoso sistémico (Maury *et al.* Arthritis Rheum. 1989, 32, 146), cirrosis biliar (Miller *et al.* Am. J. Gastroenterolog. 1992, 87, 465), necrosis intestinal (Sun *et al.* J. Clin. Invest. 1988, 81, 1328), psoriasis (Christophers. Austr. J. Dermatol. 1996, 37, S4), lesión por radiación (Redlich *et al.* J. Immunol. 1996, 157, 1705) y toxicidad tras la administración de anticuerpos monoclonales tales como OKT3 (Brod *et al.* Neurology 1996, 46, 1633). Los niveles de TNF α también se han relacionado con reacciones de injerto contra huésped (Piguet *et al.* Immunol. Ser. 1992, 56, 409), incluyendo lesión por isquemia-reperusión (Colletti *et al.* J. Clin. Invest. 1989, 85, 1333) y rechazos de aloinjertos, incluyendo los de riñón (Maury *et al.* J. Exp. Med. 1987, 166, 1132), hígado (Imagawa *et al.* Transplantation 1990, 50, 219), corazón (Boiling *et al.* J. Transplantation 1992, 53, 283) y piel (Stevens *et al.* Transplant. Proc. 1990, 22, 1924), rechazo de aloinjerto pulmonar (Grossman *et al.* Immunol. Allergy Clin. N. Am. 1989, 9, 153) incluyendo rechazo crónico de aloinjerto pulmonar (bronquitis obliterante; LoCicero *et al.* J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1990, 99, 1059), así como complicaciones debidas a sustitución total de cadera (Cirino *et al.* Life Sci. 1996, 59, 86). TNF α también se ha relacionado con enfermedades infecciosas (revisión: Beutler *et al.* Crit. Care Med. 1993, 21, 5423; Degre. Biotherapy 1996, 8, 219) incluyendo tuberculosis (Rook *et al.* Med. Malad. Infect. 1996, 26, 904), infección por *Helicobacter pylori* durante enfermedad de úlcera péptica (Beales *et al.* Gastroenterology 1997, 112, 136), enfermedad de Chaga resultante de infección por *Trypanosoma cruzi* (Chandrasekar *et al.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996, 223, 365), efectos de toxina de tipo Shiga resultantes de infección por *E. coli* (Harel *et al.* J. Clin. Invest. 1992, 56, 40), los efectos de enterotoxina A resultantes de infección por *Staphylococcus* (Fischer *et al.* J. Immunol. 1990, 144, 4663), infección por meningococos (Waage *et al.* Lancet 1987, 355; Ossege *et al.* J. Neurolog. Sci. 1996, 144, 1), e infecciones por *Borrelia burgdorferi* (Brandt *et al.* Infect. Immunol. 1990, 58, 983), *Treponema pallidum* (Chamberlin *et al.* Infect. Immunol. 1989, 57, 2872), citomegalovirus (CMV; Geist *et al.* Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1997, 16, 31), virus influenza (Beutler *et al.* Clin. Res. 1986, 34, 491a), virus Sendai (Goldfield *et al.* Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1989, 87, 1490), virus de la encefalomiелitis de Theiler (Sierra *et al.* Immunology 1993, 78, 399) y el virus de inmunodeficiencia humana (VIH; Poli. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1990, 87, 782; Vyakaram *et al.* AIDS 1990, 4,21; Badley *et al.* J. Exp. Med. 1997,185, 55).

Se cree que diversas enfermedades están mediadas por una actividad excesiva o no deseada de metaloproteasas (MMP) que destruyen la matriz o por un desequilibrio en la proporción de las MMP con respecto a los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP). Estas incluyen osteoartritis (Woessner *et al.* J. Biol. Chem. 1984, 259, 3633), artritis reumatoide (Mullins *et al.* Biochim. Biophys. Acta 1983, 695, 117; Woolley *et al.* Arthritis Rheum. 1977, 20, 1231; Gravalles *et al.* Arthritis Rheum. 1991, 34, 1076), artritis séptica (Williams *et al.* Arthritis Rheum. 1990, 33, 533), metástasis tumoral (Reich *et al.* Cancer Res. 1988, 48, 3307; Matrisian *et al.* Proc. Nat'l. Acad. Sci., USA 1986, 83, 9413), enfermedades periodontales (Overall *et al.* J. Periodontal Res. 1987, 22, 81), ulceración corneal (Burns *et al.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 1569), proteinuria (Baricos *et al.* Biochem. J. 1988, 254, 609), trombosis coronaria por ruptura de placa aterosclerótica (Henney *et al.* Proc. Nat'l. Acad. Sci., USA 1991, 88, 8154), enfermedad aneurismática aórtica (Vine *et al.* Clin. Sci. 1991, 81, 233), anticoncepción (Woessner *et al.* Steroids 1989, 54, 491), epidermólisis ampollosa distrófica (Kronberger *et al.* J. Invest. Dermatol. 1982, 79, 208), pérdida degenerativa de cartílago tras una lesión traumática articular, osteopenias mediadas por la actividad de MMP, síndrome temporomandibular y enfermedades desmielinizantes del sistema nervioso (Chantry *et al.* J. Neurochem. 1988, 50, 688).

Debido a que la inhibición de p38 conduce a la inhibición de la producción de TNF α y de la producción de MMP, la inhibición de la enzima proteína activada por mitógenos (MAP) cinasa p38 proporciona un enfoque para el tratamiento de las enfermedades anteriormente indicadas, incluyendo osteoporosis y trastornos inflamatorios como artritis reumatoide y EPOC (Badger, A. M.; Bradbeer, J. N.; Votta, B.; Lee, J. C.; Adams, J. L.; Griswold, D. E. J. Pharm. Exper. Ther. 1996, 279, 1453).

La vasculogénesis implica la formación *de novo* de vasos sanguíneos a partir de precursores celulares endoteliales o angioblastos. Las primeras estructuras vasculares del embrión se forman mediante vasculogénesis. La angiogénesis implica el desarrollo de capilares a partir de vasos sanguíneos existentes y es el principal mecanismo por el cual se vascularizan los órganos, como el cerebro y el riñón. Mientras que la vasculogénesis está limitada al desarrollo embrionario, la angiogénesis puede producirse en el adulto, por ejemplo, durante el embarazo, el ciclo menstrual o la cicatrización de heridas.

Uno de los principales reguladores de la angiogénesis y la vasculogénesis, tanto en el desarrollo embrionario como en algunas enfermedades dependientes de la angiogénesis, es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF; también llamado factor de permeabilidad vascular, VPF). El VEGF representa una familia de isoformas de mitógenos existentes en formas homodiméricas debido a corte y empalme de ARN alternativo. Las isoformas de VEGF son altamente específicas para células endoteliales vasculares (para revisiones, véase: Farrara *et al.* Endocr. Rev. 1992, 13, 18; Neufeld *et al.* FASEB J. 1999, 13, 9). La expresión de VEGF se induce por hipoxia (Sbweiki *et al.* Nature 1992, 359,

843), así como por diversas citocinas y factores de crecimiento, tales como interleucina 1, interleucina 6, factor de crecimiento epidérmico y factor de crecimiento transformante.

5 Hasta la fecha, se ha notificado que el VEGF y miembros de la familia del VEGF se unen a uno o más de tres receptores tirosina cinasa transmembrana (Mustonen *et al.* J. Cell Biol., 1995, 129, 895), receptor 1 del VEGF (también conocido como flt-1 (tirosina cinasa 1 tipo fms)), VEGFR-2 (también conocido como receptor que contiene dominio de inserción de cinasa (KDR); el análogo murino de KDR se conoce como cinasa 1 de hígado fetal (flk-1)) y VEGFR-3 (también conocido como flt-4). Se ha mostrado que KDR y flt-1 tienen diferentes propiedades de transducción de señales (Waltenberger *et al.* J. Biol. Chem. 1994, 269, 26988; Park *et al.* Oncogene 1995, 10, 135). Por tanto, KDR
10 experimenta una gran fosforilación de tirosina dependiente del ligando en células intactas, mientras que flt-1 muestra una respuesta débil. Por tanto, la unión a KDR es un requisito crítico para la inducción del espectro completo de respuestas biológicas mediadas por VEGF.

15 *In vivo*, VEGF desempeña un papel fundamental en la vasculogénesis e induce angiogénesis y permeabilización de vasos sanguíneos. La expresión de VEGF desregulada contribuye al desarrollo de diversas enfermedades que se caracterizan por procesos anómalos de angiogénesis y/o hiperpermeabilización. Por tanto, la regulación de la cascada de traducción de señales mediada por VEGF proporcionará una forma útil de control de procesos anómalos de angiogénesis y/o hiperpermeabilización.

20 La angiogénesis se considera un prerrequisito imprescindible para el crecimiento de tumores de más de aproximadamente 1-2 mm. Se puede suministrar oxígeno y nutrientes a células de tumores más pequeños que este límite a través de difusión. Sin embargo, cada tumor depende de la angiogénesis para continuar su crecimiento después de haber alcanzado determinado tamaño. Las células tumorigénicas dentro de regiones hipóxicas de tumores responden mediante la estimulación de la producción de VEGF, lo cual provoca la activación de células endoteliales
25 quiescentes para estimular la formación de nuevos vasos sanguíneos. (Shweiki *et al.* Proc. Nat'l. Acad. Sci., 1995, 92, 768). Además, la producción de VEGF en regiones tumorales en las cuales no hay angiogénesis puede producirse mediante la ruta de transducción de señales ras (Grugel *et al.* J. Biol. Chem., 1995, 270, 25915; Rak *et al.* Cancer Res. 1995, 55, 4575). Estudios de hibridación *in situ* han demostrado que el ARNm de VEGF está fuertemente regulado por incremento en una amplia variedad de tumores humanos, incluyendo carcinomas de pulmón (Mattern *et al.* Br. J. Cancer 1996, 73, 931), tiroides (Viglietto *et al.* Oncogene 1995, 11, 1569), mama (Brown *et al.* Human Pathol. 1995, 26, 86), tracto gastrointestinal (Brown *et al.* Cancer Res. 1993, 53, 4727; Suzuki *et al.* Cancer Res. 1996, 56, 3004), riñón y vejiga (Brown *et al.* Am. J. Pathol. 1993, 1431, 1255), ovario (Olson *et al.* Cancer Res. 1994, 54, 1255) y cuello uterino (Guidi *et al.* J. Nat'l Cancer Inst. 1995, 87, 12137), así como angiosarcoma (Hashimoto *et al.* Lab. Invest. 1995, 73, 859) y diversos tumores intracraneales (Plate *et al.* Nature 1992, 359, 845; Phillips *et al.* Int. J. Oncol. 1993, 2, 913; Berkman
30 *et al.* J. Clin. Invest., 1993, 91, 153). Se ha demostrado que anticuerpos monoclonales neutralizantes frente a KDR son eficaces en el bloqueo de la angiogénesis tumoral (Kim *et al.* Nature 1993, 362, 841; Rockwell *et al.* Mol. Cell. Differ. 1995, 3, 315).

40 La sobreexpresión de VEGF, por ejemplo, en condiciones de hipoxia extrema, puede conducir a angiogénesis intraocular, dando como resultado una hiperproliferación de vasos sanguíneos, conduciendo eventualmente a ceguera. Se ha observado una cascada de eventos de este tipo en diversas retinopatías, incluyendo retinopatía diabética, obstrucción venosa retiniana isquémica, retinopatía de premadurez (Aiello *et al.* New Engl. J. Med. 1994, 331, 1480; Peer *et al.* Lab. Invest. 1995, 72, 638) y degeneración macular asociada a la edad (AMD; véase, Lopez *et al.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1996, 37, 855).

45 En la artritis reumatoide (RA), el crecimiento del pannus vascular puede estar mediado por la producción de factores angiogénicos. Los niveles de VEGF inmunorreactivo son altos en el líquido sinovial de pacientes con RA, mientras que los niveles de VEGF son bajos en el líquido sinovial de pacientes con otras formas de artritis con la enfermedad degenerativa articular (Koch *et al.* J. Immunol. 1994, 152, 4149). Se ha demostrado que el inhibidor de la angiogénesis
50 AGM-170 previene la neovascularización de la articulación en el modelo de artritis inducida por colágeno en ratas (Peacock *et al.* J. Exper. Med. 1992, 175, 1135).

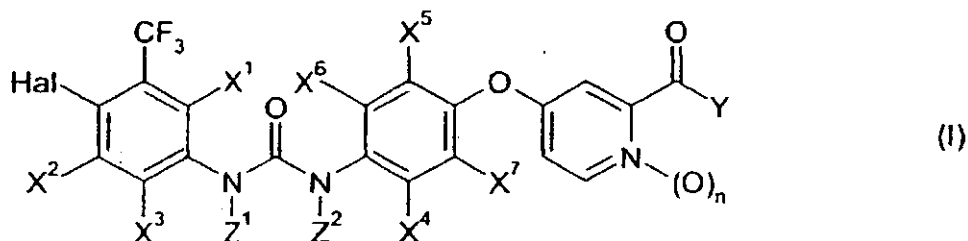
También se ha demostrado una expresión de VEGF aumentada en piel con psoriasis, así como trastornos ampollosos asociados con la formación de ampollas subepidérmicas, tales como penfigoide ampolloso, eritema multiforme y dermatitis herpetiforme (Brown *et al.* J. Invest. Dermatol. 1995, 104, 744).

Debido a que la inhibición de KDR conduce a la inhibición de angiogénesis y permeabilización mediadas por VEGF, los inhibidores de KDR serán útiles en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por procesos anómalos de angiogénesis y/o hiperpermeabilización, incluyendo las enfermedades anteriormente indicadas.

60

Sumario de la invención

La invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



en la que,

Y es OR^1 o NHR^2 ,

Hal es cloro o bromo,

R^1 es H o alquilo C_1-C_6

R^2 es H, OH, CH_3 o CH_2OH ,

Z^1 y Z^2 son cada uno H u OH, en los que sólo uno de Z^1 y Z^2 puede ser OH,

de X^1 a X^7 son cada uno, independientemente, H, OH u $O(CO)$ alquilo C_1-C_4 , y

n es 0 ó 1,

con la condición de que se cumpla al menos una de las condiciones a-c,

a) Z^1 o Z^2 es OH,

b) R^2 es OH,

c) n es 1, o una sal del mismo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un

estereoisómero aislado del mismo (denominados colectivamente a continuación en el presente documento compuestos de la invención). Se entiende que el término estereoisómero abarca diastereoisómeros, enantiómeros, isómeros geométricos, etc.

Un experto en la técnica reconocerá que algunos de los compuestos de fórmula (I) pueden existir en diferentes formas isoméricas geométricas. Además, algunos de los compuestos de la presente invención tienen uno o más átomos de carbonos asimétricos y, por tanto, pueden existir en forma de isómeros ópticos, así como también en forma de mezclas racémicas o no racémicas de los mismos, y en forma de diastereómeros y mezclas diastereoméricas. Se considera que todos estos compuestos, incluyendo los isómeros cis, los isómeros trans, las mezclas diastereoméricas, los racematos, las mezclas no racémicas de enantiómeros, los enantiómeros sustancialmente puros y puros, están dentro del alcance de la presente invención. En el presente documento, se pretende que enantiómeros sustancialmente puros signifique que no está presente más del 5% p/p del enantiómero opuesto correspondiente.

Los isómeros ópticos se pueden obtener mediante resolución de las mezclas racémicas según procedimientos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoméricas usando un ácido o una base ópticamente activos. Ejemplos de ácidos adecuados son ácido tartárico, diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, ditoluoiltartárico y alcanforsulfónico. Se pueden separar mezclas de diastereoisómeros en sus diastereómeros individuales basándose en sus diferencias físico-químicas mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante cromatografía o cristalización fraccionada. Las bases o los ácidos ópticamente activos se liberan de las sales diastereoméricas separadas. Un procedimiento diferente para la separación de isómeros ópticos implica el uso de una columna de cromatografía quiral (por ejemplo, columnas de HPLC quiral) elegida de forma óptima para maximizar la separación de los enantiómeros. Se fabrican columnas de HPLC quiral adecuadas por Diacel, por ejemplo, Chiracel OD y Chiracel OJ. Asimismo, se pueden obtener los compuestos ópticamente activos de fórmula (I) usando materiales de partida ópticamente activos.

Con respecto a los compuestos de la invención cuando n es 1. Estos compuestos incluyen particularmente compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), y de X^1 a X^7 son cada uno H; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), y Z^1 y Z^2 son cada uno H; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), y al menos uno de X^1 a X^7 es OH u $O(CO)$ alquilo C_1-C_4 ; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es CH_2OH ; compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH; y compuestos de la invención en los que n es 1 en la fórmula (I) e Y es OH.

Otros compuestos de la invención de interés son aquellos en los que en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H. Estos incluyen particularmente compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, y n es 0; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y

5 Z^2 es H, n es 0, Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, y n es 0, y de X^1 a X^7 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, y n es 0, Y es NHR_2 y R^2 es CH_2OH ; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, n es 0, Y es NHR_2 y R^2 es OH; y compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, y n es 0 e Y es OH.

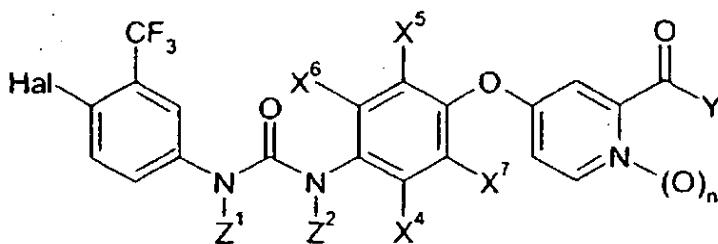
10 Compuestos adicionales de la invención de interés son aquellos en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH. Estos compuestos incluyen particularmente compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH y n es 0; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH y n es 0 y de X^1 a X^7 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH y n es 0 y Z^1 y Z^2 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH y n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H; y compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es NHR^2 y R^2 es OH y n es 0 y al menos uno de X^1 a X^7 es OH u O(CO)alquilo C_1-C_4 .

20 También son compuestos de la invención de interés aquellos en los que, en la fórmula (I), Y es OH. Estos compuestos incluyen particularmente compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es OH y n es 0; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es OH y n es 0 y de X^1 a X^7 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es OH y n es 0 y Z^1 y Z^2 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es OH y n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H; y compuestos de la invención en los que, en la fórmula (I), Y es OH y n es 0 y al menos uno de X^1 a X^7 es OH u O(CO)alquilo C_1-C_4 .

25 Los compuestos particularmente preferidos incluyen:

1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida.
 1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida.
 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida.
 1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida.
 30 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridin-carboxamida.
 1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil]amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridin-carboxamida y sales, estereoisómeros y profármacos de los mismos.

35 Un subgrupo de los compuestos de la invención que son de interés incluye compuestos de fórmula (II), o una sal o estereoisómero de los mismos,



II

40 en la que,

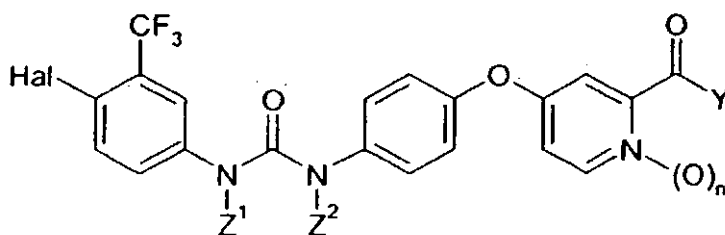
Y es OR^1 o NHR^2 ,
 Hal es cloro o bromo,
 R^1 es H o alquilo C_1-C_6 ,
 R^2 es H, OH, CH_3 o CH_2OH ,
 45 Z^1 y Z^2 son cada uno H u OH, en los que solo uno de Z^1 y Z^2 puede ser OH,
 de X^4 a X^7 son cada uno, independientemente, H, OH u O(CO)alquilo C_1-C_4 , y
 n es 0 ó 1,

50 con la condición de que se cumpla al menos una de las condiciones a-c,

- a) Z^1 o Z^2 es OH,
- b) R^2 es OH,
- c) n es 1.

Estos incluyen compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 1; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 1 y Z^1 y Z^2 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 1, Z^1 y Z^2 son H y al menos uno de X^4 a X^7 es OH; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 1, Z^1 y Z^2 son H e Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0, Z^1 y Z^2 son cada uno H, y al menos uno de X^4 a X^7 es OH; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H y al menos uno de X^4 a X^7 es OH; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H e Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H e Y es NHR^2 , R^2 es OH; y compuestos de la invención en los que, en la fórmula (II), Y es NHR^2 , R^2 es OH y n es 0 y al menos uno de X^4 a X^7 es OH.

Otro subgrupo de los compuestos de la invención que son de interés incluye compuestos de fórmula (III), o una sal o estereoisómero de los mismos,



III

en la que,

Y es OR^1 o NHR^2 ,
 Hal es cloro o bromo,
 R^1 es H o alquilo C_1-C_6 ,
 R^2 es H, OH, CH_3 o CH_2OH ,
 Z^1 y Z^2 son cada uno H u OH, en los que solo uno de Z^1 y Z^2 puede ser OH, y
 n es 0 ó 1,

con la condición de que se cumpla al menos una de las condiciones a-c,

- a) Z^1 o Z^2 es OH,
- b) R^2 es OH,
- c) n es 1.

Estos incluyen compuestos de la invención en los que, en la fórmula (III), n es 1, y Z^1 y Z^2 son cada uno H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (III), n es 1, Z^1 y Z^2 son cada uno H, Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (III), n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H; compuestos de la invención en los que, en la fórmula (III), n es 0, Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H, Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 ; y compuestos de la invención en los que, en la fórmula (III), Y es OH.

La invención se refiere además a procedimientos y métodos para la preparación de los compuestos novedosos de la invención. Dichos procedimientos y métodos incluyen, pero no se limitan a, la oxidación del anillo piridilo de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida y 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida para dar sus correspondientes 1-óxidos de piridina; la oxidación formal de cualquiera de los nitrógenos de urea de los compuestos de la invención para dar una N-hidroxiurea; la oxidación de cualquiera de las posiciones representadas por de X^1 a X^7 de los compuestos de la invención mediante la cual se sustituye un átomo de hidrógeno por un grupo hidroxilo; la hidroxilación de las N-metilamidas de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida y 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida para dar las correspondientes hidroximetilamidas; la hidroxilación de dichas N-metilamidas para dar ácidos hidroxámicos; la desmetilación de dichas N-metilamidas para dar amidas no sustituidas, la hidrólisis de dichas N-metilamidas para dar ácidos carboxílicos y combinaciones de los mismos. Además, la invención se refiere a la esterificación de grupos hidroxilo en las posiciones de X^1 a X^7 para dar, por ejemplo, acetatos.

Los procedimientos de interés incluyen un procedimiento para preparar 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida o 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, o un estereoisómero aislado de los mismos que comprende oxidar 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida o 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida para dar los correspondientes 1-óxidos de piridina, y un procedimiento para preparar 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida o 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-

3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida, o sal farmacéuticamente aceptable o un estereoisómero aislado de los mismos que comprende oxidar 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino} carbonil) amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida o 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida para dar los correspondientes 1-óxidos de piridina.

En la invención se incluyen compuestos preparados mediante estos métodos. También se incluyen compuestos obtenidos mediante transformación, incluyendo transformación metabólica, de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida o 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil] amino}carbonil) amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida para o bien:

- a) sustituir uno o más de los hidrógenos de fenilo por un grupo hidroxilo,
- b) hidroxilar la N-metilamida para dar una hidroximetilamida o un ácido hidroxámico,
- c) desmetilar la N-metilamida para dar una amida no sustituida,
- d) oxidar uno o más de los nitrógenos de urea de =NH a =NOH,
- e) hidrolizar la N-metilamida para dar un ácido carboxílico,
- f) oxidar el nitrógeno de piridina para dar un 1-óxido de piridina, o
- g) una combinación de a-f,

con la condición de que se lleve a cabo al menos una de las etapas b), d) y f).

Son de particular interés los compuestos obtenidos mediante transformación, incluyendo transformación metabólica, de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida o 4-{4-[[[4-bromo-3--N-metil-2-piridin-carboxamida para o bien:

- a) hidroxilar la N-metilamida para dar una hidroximetilamida o un ácido hidroxámico,
- b) desmetilar la N-metilamida para dar una amida no sustituida,
- c) oxidar uno o más de los nitrógenos de urea de =NH a =NOH,
- d) hidrolizar la N-metilamida para dar un ácido carboxílico,
- e) oxidar el nitrógeno de piridina para dar un 1-óxido de piridina, o
- f) una combinación de a-e,

con la condición de que se lleve a cabo al menos una de las etapas a), c) y e).

Se entiende que el término "1-óxido de piridina", según se utiliza en todo el documento, incluye 1-oxo-piridina y 1-hidroxi-piridina y que, para los fines de este documento, los 3 términos se consideran intercambiables. Por ejemplo, el programa Nomenclator™ v. 3.01, de ChemInnovation Software, Inc., identifica compuestos de fórmula III en los que Y = NHCH₃, Hal= Cl, Z¹ y Z⁷ = H y n=1, dibujados con el programa ChemDraw, como N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]({4-[1-hidroxi-2-(N-metilcarbamoil)(4-piridiloxi)]fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida.

La invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la invención.

Estas incluyen una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la invención y un vehículo fisiológicamente aceptable. Se prefiere una composición farmacéutica que comprenda una cantidad eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida, o 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero aislado o una mezcla de los mismos y un vehículo fisiológicamente aceptable.

Las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos también quedan comprendidas dentro del alcance de la invención.

Las sales de esta invención son especialmente las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula (I) como, por ejemplo, sales de adición de ácidos orgánicos o inorgánicos de compuestos de fórmula (I). Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácidos de halógenos (como ácido clorhídrico), ácido sulfúrico o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácidos carboxílicos, fosfónico, sulfónico o sulfámico, incluyendo ejemplos el ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido 2- o 3-hidroxi-butírico, ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido glucónico, ácido glucosamonocarboxílico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azeiaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido glucárico, ácido galactárico, aminoácidos (como ácido glutámico, ácido aspártico, N-metilglicina, ácido acetilaminoacético, N-acetilasparagina o N-acetilcisteína), ácido pirúvico, ácido acetoacético, ácido metanosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, fosfoserina y ácido 2- o 3-glicerofosfórico.

La formación de profármacos se conoce bien en la técnica para potenciar las propiedades del compuesto de partida; dichas propiedades incluyen solubilidad, absorción, bioestabilidad y tiempo de liberación (véase "Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Systems" (sexta edición), editado por Ansel *et al.*, publicado por Williams & Wilkins, páginas 27-29, (1995). Los profármacos comúnmente utilizados de los compuestos de oxazolil-fenil-2,4-diamino-pirimidina dados a conocer se diseñan para aprovechar las principales reacciones de biotransformación de fármacos y también deben considerarse comprendidos dentro del alcance de la invención. Las principales reacciones de biotransformación de fármacos incluyen N-desalquilación, O-desalquilación, hidroxilación alifática, hidroxilación aromática, N-oxidación, S-oxidación, desaminación, reacciones de hidrólisis, glucuronidación, sulfatación y acetilación (véase The Pharmacological Basis of Therapeutics de Goodman y Gilman (novena edición), editor Molinoff *et al.*, publ. por McGraw-Hill, páginas 11-13, (1996)).

La invención también se refiere al uso de un compuesto de la invención, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para tratar y prevenir enfermedades, por ejemplo, trastornos de angiogénesis e inflamatorios y osteoporosis en los mamíferos.

Estos incluyen el uso de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la osteoporosis, inflamación, y trastornos de angiogénesis (distintos del cáncer) en un mamífero. Se prefiere el uso de una cantidad eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida, o 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero aislado o una mezcla de los mismos para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la osteoporosis, inflamación y trastornos de angiogénesis (distintos del cáncer) en un mamífero.

La invención también se refiere al uso de un compuesto de la invención, o una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la invención, en combinación con un agente citotóxico, para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir el cáncer y otros trastornos hiperproliferativos.

Estos incluyen el uso de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir un trastorno hiperproliferativo en un mamífero. Se prefiere el uso de una cantidad eficaz de 1-óxido 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida, o 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable o un estereoisómero aislado, o una de mezcla de los mismos para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir un trastorno hiperproliferativo en un mamífero.

Pueden administrarse uno o más compuestos o composiciones adicionales al mamífero, como, por ejemplo, un compuesto o una composición anticancerígenos, que no son un compuesto o una composición de acuerdo con la invención, que son preferentemente un compuesto o una composición citotóxicos. La composición farmacéutica también incluye una cantidad eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, 1-óxido 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida, o 1-óxido 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}2-piridin-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable, o un estereoisómero aislado o una mezcla de los mismos junto con un compuesto o una composición citotóxicos.

Los agentes antiproliferativos opcionales que pueden añadirse a la composición incluyen, pero no se limitan a, compuestos indicados en los regímenes con fármacos quimioterápicos contra el cáncer de la undécima edición del Merck Index (1996), como asparaginasa, bleomicina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina (adriamicina), epirubicina, etopósido, 5-fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiaurea, ifosfamida, irinotecán, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecán, vinblastina, vincristina y vindesina.

Otros agentes antiproliferativos adecuados para su uso con la composición de la invención incluyen, pero no se limitan a, los compuestos que se reconoce que se usan en el tratamiento de enfermedades neoplásicas en The Pharmacological Basis of Therapeutics de Goodman y Gilman (novena edición), editor Molinoff *et al.*, publ. por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), como aminoglutetimida, L-asparaginasa, azatioprina, 5-azacitidina cladribina, busulfano, dietilestilbestrol, 2',2'-difluorodesoxicidina, docetaxel, eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, fosfato de fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarubicina, interferón, acetato de medroxioprogesterona, acetato de meggestrol, melfalán, mitotano, paclitaxel, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotopa, trimetilmelamina, uridina y vinorelbina.

Otros agentes antiproliferativos adecuados para su uso con la composición de la invención incluyen, pero no se limitan a, otros agentes anticancerígenos, como oxaliplatino, gemcitabona, gefinitib, taxotere, BCNU, CCNU, DTIC, ara A, ara C, herceptina, actinomicina D, epotilona, irinotecán, raloxifeno y topotecán.

5 Descripción del tratamiento de trastornos hiperproliferativos

El cáncer y los trastornos hiperproliferativos se definen de la siguiente manera. Estos trastornos incluyen, pero no se limitan a, tumores sólidos, como cánceres de mama, vías respiratorias, cerebro, órganos reproductores, tracto digestivo, tracto urinario, ojo, hígado, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroideo, y sus metástasis distantes. Esos trastornos también incluyen linfomas, sarcomas y leucemias.

Los ejemplos de cáncer de mama incluyen, pero no se limitan a, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ* y carcinoma lobular *in situ*.

Los ejemplos de cánceres de las vías respiratorias incluyen, pero no se limitan a, carcinoma de pulmón de células pequeñas y de células no pequeñas, así como adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.

Los ejemplos de cánceres de cerebro incluyen, pero no se limitan a, glioma de tronco encefálico e hipofitálmico, astrocitoma cerebelar y cerebral, meduloblastoma, ependimoma, así como también el tumor neuroectodérmico y pineal.

Los tumores de los órganos reproductores masculinos incluyen, pero no se limitan a, cáncer de próstata y de testículos.

Los tumores de los órganos reproductores femeninos incluyen, pero no se limitan a, cáncer endometrial, de cuello uterino, de ovarios, vaginal y vulvar, así como sarcoma del útero.

Los tumores del tracto digestivo incluyen, pero no se limitan a, cánceres anal, de colon, colorrectal, esofágico, de vesícula biliar, gástrico, pancreático, rectal, del intestino delgado y de las glándulas salivares.

Los tumores del tracto urinario incluyen, pero no se limitan a, cánceres de vejiga, de pene, de riñón, renal, pélvico, del uréter y uretral.

Los cánceres del ojo incluyen, pero no se limitan a, melanoma intraocular y retinoblastoma.

Los ejemplos de cánceres de hígado incluyen, pero no se limitan a, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma del conducto biliar intrahepático), y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.

Los cánceres de piel incluyen, pero no se limitan a, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de piel de células de Merkel y el cáncer de piel distinto de melanoma.

Los cánceres de cabeza y cuello incluyen, pero no se limitan a, cáncer de laringe/hipofaringe/nasofaringe/orofaringe, y cáncer de labios y de la cavidad bucal.

Los linfomas incluyen, pero no se limitan a, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma no de Hodgkin, linfoma cutáneo de células T, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central.

Los sarcomas incluyen, pero no se limitan a, sarcoma de tejido blando, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rhabdomyosarcoma.

Las leucemias incluyen, pero no se limitan a, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielogenosa crónica y leucemia de células peludas.

Estos trastornos se han caracterizado bien en el ser humano, pero también existe una etiología similar en otros mamíferos.

En general, el uso de agentes citotóxicos y/o citostáticos en combinación con inhibidores de la raf cinasa de compuesto de arilurea servirá para (1) proporcionar una mejor eficacia en la reducción del crecimiento de un tumor o incluso eliminar el tumor en comparación con la administración de cualquier agente solo; (2) permitir la administración de cantidades inferiores de los agentes quimioterápicos administrados; (3) proporcionar un tratamiento quimioterápico que se tolera bien por el paciente con menos complicaciones farmacológicas nocivas que las observadas con quimioterapias con un agente único y algunas otras terapias de combinación; (4) permitir el tratamiento de un espectro más amplio de distintos tipos de cánceres en mamíferos, especialmente seres humanos; (5) proporcionar una tasa de respuesta más elevada entre los pacientes tratados; (6) proporcionar un tiempo de supervivencia mayor entre los pacientes tratados en comparación con tratamientos de quimioterapia convencionales; (7) proporcionar un tiempo mayor para la progresión tumoral, y/o (8) producir resultados de eficacia y tolerancia al menos tan buenos como los de los agentes utilizados solos, en comparación con casos conocidos en los que otras combinaciones de agentes contra el cáncer producen efectos antagonistas.

La presente invención se refiere a una combinación que comprende (a) un compuesto de acuerdo con la invención, (b) al menos otro agente quimioterápico citotóxico o citostático; o sales farmacéuticamente aceptables de cualquier componente (a) o (b).

La invención también se refiere a una preparación farmacéutica que comprende (1) cantidades de (a) un compuesto de acuerdo con la invención; (b) al menos otro agente citotóxico o citostático en cantidades que son conjuntamente eficaces para tratar un cáncer, en la que cualquier componente (a) o (b) también puede estar presente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable si está presente al menos un grupo formador de sal, con (2) una o más moléculas portadoras farmacéuticamente aceptables.

La invención también se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la invención y al menos otro agente quimioterápico que es un agente citotóxico o citostático para la fabricación de un medicamento para tratar un cáncer. El compuesto de acuerdo con la invención y el agente citotóxico o citostático están en cantidades que juntas son

terapéuticamente eficaces contra enfermedades hiperproliferativas tal como se definió anteriormente. Así, el compuesto de acuerdo con la invención es eficaz para cánceres mediados por la raf cinasa. Sin embargo, estos compuestos también son eficaces para cánceres no mediados por la raf cinasa.

5 En una realización preferida, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la invención opcionalmente en combinación con un agente quimioterápico citotóxico o citostático que incluye, pero no se limita a, inhibidores de ADN topoisomerasa I y II, intercaladores del ADN, agentes alquilantes, disruptores de microtúbulos, agonistas y antagonistas del receptor del factor hormonal y de crecimiento, otros inhibidores de cinasa y antimetabolitos, para la fabricación de un medicamento para tratar un cáncer en un mamífero, especialmente un paciente humano.

10 En otra realización, se le puede administrar la composición que comprende un compuesto de acuerdo con la invención o el agente citotóxico o citostático a un paciente en forma de un comprimido, un líquido, un gel tópico, un inhalador o en forma de una composición de liberación sostenida.

15 En una realización de la invención, se puede administrar un compuesto de acuerdo con la invención simultáneamente con un agente citotóxico o citostático a un paciente con cáncer, en la misma formulación o, más típicamente, en formulaciones separadas y, frecuentemente, utilizando diferentes vías de administración. La administración también puede ser secuencial, en cualquier orden.

20 En otra realización, se puede administrar un compuesto de acuerdo con la invención en tándem con el agente citotóxico o citostático, en la que un compuesto de acuerdo con la invención se le puede administrar a un paciente una o más veces al día durante hasta 28 días consecutivos, con la administración concurrente o intermitente de un agente citotóxico o citostático durante el mismo periodo de tiempo total.

25 En otra realización de la invención, se le puede administrar un compuesto de acuerdo con la invención a un paciente en una dosificación oral, intravenosa, intramuscular, subcutánea o parenteral que puede oscilar entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal total.

30 En otra realización, se le puede administrar el agente citotóxico o citostático a un paciente en una dosificación intravenosa, intramuscular, subcutánea o parenteral que puede oscilar entre aproximadamente 0,1 mg y 200 mg/kg de peso corporal del paciente.

Además, la invención se refiere a un método para inhibir la proliferación de células cancerosas que comprende poner en contacto las células cancerosas con una preparación farmacéutica o producto de la invención, especialmente un método para tratar una enfermedad proliferativa que comprende poner en contacto un sujeto, células, tejidos o un fluido corporal de dicho sujeto, que se sospecha que tiene un cáncer, con una composición farmacéutica o producto de esta invención.

35 Esta invención también se refiere a composiciones que contienen tanto un compuesto de acuerdo con la invención como los otros agentes citotóxicos o citostáticos en las cantidades de esta invención.

40 Esta invención se refiere además a kits que comprenden dosis separadas de los dos agentes quimioterápicos mencionados en recipientes separados. Las combinaciones de la invención también pueden formarse *in vivo*, por ejemplo, en el cuerpo de un paciente.

45 El término "citotóxico" se refiere a un agente que se puede administrar para destruir o eliminar una célula cancerosa. El término "citostático" se refiere a un agente que se puede administrar para frenar la proliferación tumoral en lugar de inducir la citorreducción citotóxica que proporciona una eliminación de la célula cancerosa de la población de células viables total del paciente. Los agentes quimioterápicos descritos en el presente documento, por ejemplo, irinotecán, vinorelbina, gemcitabina y paclitaxel se consideran agentes citotóxicos. Estos agentes citotóxicos y citostáticos se usan ampliamente como agentes quimioterápicos en el tratamiento de varios tipos de cánceres y se conocen bien.

50 Estos y otros agentes citotóxicos/citostáticos se pueden administrar en las formulaciones y regímenes convencionales en los que se conocen para su uso solos.

55 **Métodos generales de preparación**

Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante el uso de reacciones y procedimientos químicos conocidos. Sin embargo, se presentan los siguientes métodos generales de preparación para ayudar al lector a sintetizar los compuestos de la presente invención, presentándose ejemplos particulares más detallados más adelante en la sección experimental que describe los ejemplos de trabajo.

60 Todos los grupos variables de estos métodos son como se describe en la descripción genérica si no se definen específicamente más adelante. Cuando un grupo variable o sustituyente con un símbolo dado se utiliza más de una vez en una estructura dada, debe entenderse que cada uno de estos grupos o sustituyentes puede variar independientemente dentro de la gama de definiciones para ese símbolo. Se reconoce que no se pueden preparar compuestos de la invención con cada grupo funcional opcional reivindicado, con cada uno de los métodos indicados

más adelante. Dentro del alcance de cada método, se utilizan sustituyentes opcionales que son estables en las condiciones de reacción, o los grupos funcionales que pueden participar en las reacciones están presentes en forma protegida cuando es necesario, y se completa la eliminación de tales grupos protectores en fases apropiadas mediante métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

5

Se pueden preparar los compuestos de la invención de acuerdo con métodos químicos convencionales, y/o según se da a conocer a continuación, a partir de materiales de partida que o bien están comercialmente disponibles o bien se pueden producir de acuerdo con métodos químicos convencionales rutinarios. Más adelante se proporcionan métodos generales para la preparación de los compuestos, y se ilustra específicamente la preparación de los compuestos representativos en los ejemplos 1 y 2.

10

Se pueden preparar ureas e hidroxioureas de fórmula (I) mediante una variedad de métodos simples conocidos en la técnica. Se pueden encontrar enfoques generales para la formación de esos compuestos en "Advanced Organic Chemistry" de J. March, John Wiley and Sons, 1985 y en "Comprehensive Organic Transformations" de R. C. Larock, VCH Publishers, 1989.

15

Más específicamente, se pueden preparar los 1-óxidos de piridina ($n = 1$ en la fórmula (I)) de la presente invención a partir de las piridinas correspondientes utilizando condiciones de oxidación conocidas en la técnica. Algunos ejemplos son tal como sigue:

20

- perácidos como ácidos meta-cloroperbenzoicos en disolventes clorados como diclorometano, dicloroetano o cloroformo (Markgraf *et al.*, Tetrahedron 1991, 47, 183).
- $(\text{Me}_3\text{SiO})_2$ en presencia de una cantidad catalítica de ácido perrénico en disolventes clorados como diclorometano (Coperet *et al.*, Tetrahedron Lett. 1998, 39, 761)
- Perfluoro-cis-2-butil-3-propiloxaziridina en varias combinaciones de disolventes halogenados (Amone *et al.* Tetrahedron 1998, 54, 7831).
- Complejo de ácido hipofluórico – acetonitrilo en cloroformo (Dayan *et al.* Synthesis 1999, 1427).
- Oxone, en presencia de una base como KOH, en agua (Robker *et al.*, J. Chem. Res. Synop. 1993, 10, 412).
- Monoperoxifalato de magnesio en presencia de ácido acético glacial (Klemm *et al.*, J. Heterocyclic Chem. 1990, 6, 1537).
- Peróxido de hidrógeno en presencia de agua y ácido acético (Lin A.J., Org. Prep. Proced. Int. 1991, 23(1), 114).
- Dimetildioxirano en acetona (Boyd *et al.*, J. Chem. Soc, Perkin Trans. 1991, 9, 2189).

25

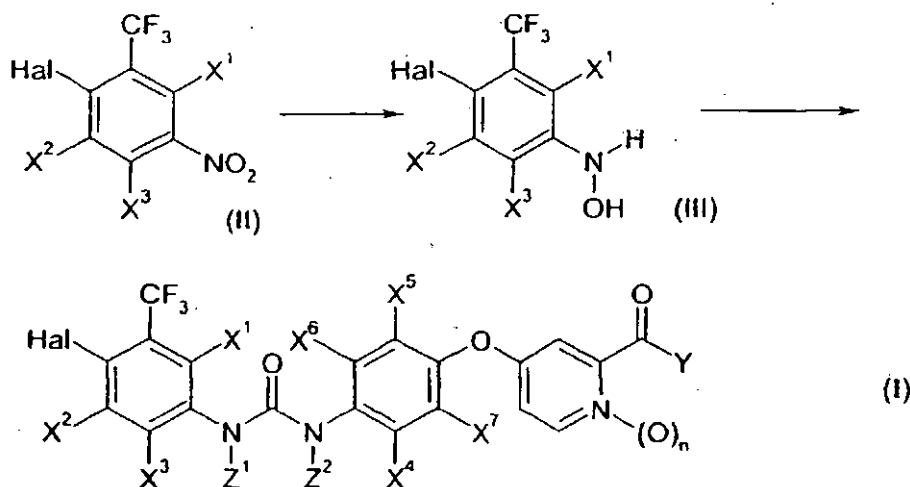
30

Los materiales de partida para las oxidaciones mencionadas anteriormente son bis-arilureas que contienen una 2-acilpiridina en sus cadenas laterales. Ya se describen preparaciones específicas de estas ureas en la bibliografía de patentes y se pueden adaptar a los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, Riedl, B., *et al.*, "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as raf Kinase Inhibitors", solicitud internacional PCT, WO 00 42012, Riedl, B., *et al.*, "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as p38 Kinase Inhibitors", solicitud internacional PCT WO 00 41698.

35

40

Se pueden preparar hidroxioureas de fórmula (I) en las que Z^1 es OH y Z^2 es H de la siguiente manera:



Se convierten nitrobenzenos sustituidos de fórmula (II), que se conocen en la técnica, en hidroxianilinas de fórmula (III), utilizando una variedad de condiciones conocidas en la técnica, por ejemplo borohidruro de sodio en presencia de catalizadores de metales de transición (Yanada *et al.*, Chem. Lett. 1989, 951 y las referencias citadas en el mismo), o N-metildihidroacridina en presencia de ácido perclórico (Fukuzumi *et al.*, J. Chem. Soc, Perkin Trans. II 1991, 9, 1393, y las referencias citadas en el mismo).

45

5 En la segunda etapa, pueden convertirse hidroxianilinas de fórmula (III) en las hidroxioreas correspondientes mediante reacción con un isocianato, o un equivalente, de la misma forma que se preparan ureas. Se pueden encontrar ejemplos de tales reacciones en la técnica (Hoffman *et al.*, J. Med. Chem, 1964, 7, 665, y Stoffel *et al.*, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1972, 105, 3115).

De manera similar, se pueden preparar hidroxioreas de fórmula (I), en las que Z¹ es H y Z² es OH, según los mismos métodos, sustituyendo los reactivos de la manera adecuada.

10 En ambos casos, se ilustra en detalle la preparación del fragmento de arilamina en la bibliografía de patentes. Por ejemplo, Miller S. *et al.*, "Inhibition of p38 Kinase using Symmetrical and Unsymmetrical Diphenyl Ureas", solicitud internacional PCT WO 99 32463, Miller, S *et al.* "Inhibition of raf Kinase using Symmetrical and Unsymmetrical Substituted Diphenyl Ureas", solicitud internacional PCT WO 99 32436, Dumas, J. *et al.*, "Inhibition of p38 Kinase Activity using Substituted Heterocyclic Ureas", solicitud internacional PCT WO 99 32111, Dumas, J. *et al.*, "Method for the Treatment of Neoplasm by Inhibition of raf Kinase using N-Heteroaryl-N'-(hetero)arylureas", solicitud internacional PCT WO 99 32106, Dumas, J. *et al.*, "Inhibition of p38 Kinase Activity using Aryl- and Heteroaryl- Substituted Heterocyclic Ureas", solicitud internacional PCT WO 99 32110, Dumas, J., *et al.*, "Inhibition of raf Kinase using Aryl- and Heteroaryl-Substituted Heterocyclic Ureas", solicitud internacional PCT WO 99 32455, Riedl, B., *et al.*, "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as raf Kinase Inhibitors", solicitud internacional PCT WO 00 42012, Riedl, B., *et al.*, "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as p38 Kinase Inhibitors", solicitud internacional PCT WO 00 41698.

25 Se pueden preparar hidroximetil-amidas de fórmula (I) en las que Y es NHCH₂OH mediante hidroxilación de las amidas no correspondientes (Y = NH₂) mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, formaldehído acuoso en presencia de etanol e hidróxido de sodio (Weaver *et al.*, J. Org. Chem. 1951, 16, 1111), o en presencia de carbonato de potasio (Haworth *et al.*, J. Chem. Soc. 1946, 1003).

30 Se pueden preparar ácidos hidroxámicos de fórmula (I) en los que Y es NHOH mediante amidación de los ésteres correspondientes (Y = O-alquilo) mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo hidroxilamina en presencia de ácido acético y agua (Boshagen, H., Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1967, 100, 954). Se pueden obtener los mismos compuestos a partir de los ácidos correspondientes (Y = OH) mediante la activación en una sola etapa del ácido con cloroformiato de etilo, seguida de la reacción con hidroxilamina en metanol (Reddy *et al.*, Tetrahedron Lett. 2000, 41(33), 6285), o mediante la activación del ácido para dar un 1-acilimidazol, seguida de la reacción con clorhidrato de hidroxilamina (Staab *et al.*, Angewandte Chem., 1962, 74, 407).

35 Por último, se pueden manipular adicionalmente las ureas utilizando métodos familiares para los expertos en la técnica.

La invención también incluye composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de la invención y un vehículo fisiológicamente aceptable.

40 Los compuestos se pueden administrar por vía oral, por vía tópica, por vía parenteral, mediante inyección, mediante inhalación o nebulización, o por vía rectal en formulaciones de dosificación unitaria. La administración mediante inyección incluye inyecciones intravenosa, intramuscular, subcutánea y parenteral, así como el uso de técnicas de infusión. Uno o más compuestos pueden estar presentes en asociación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos y, si se desea, otros principios activos.

45 Se pueden preparar composiciones destinadas para uso oral de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en diluyentes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones agradables. Los comprimidos contienen el principio activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido alginico; y agentes aglutinantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no recubrirse o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la adsorción en el tracto gastrointestinal, y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso en el tiempo, como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También se pueden preparar estos compuestos en una forma sólida de liberación rápida.

60 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

65 Las suspensiones acuosas contienen materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido que se produce de natural, por ejemplo, lecitina; o

5 productos de condensación o un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, poli(estearato de oxietileno); o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol; o productos de condensación del óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, como poli(monooleato oxietilensorbitol); o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo poli(monooleato de etilensorbitano). Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de n-propilo o etilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, como sacarosa o sacarina.

10 Polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo mezclado con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se muestran a modo de ejemplo por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

15 Los compuestos también pueden presentarse en forma de formulaciones líquidas no acuosas, por ejemplo, suspensiones oleosas que se pueden formular suspendiendo los principios activos en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de cacahuete, o en un aceite mineral como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes, como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar preparaciones orales agradables. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante como ácido ascórbico.

20 Las composiciones farmacéuticas de la invención también se pueden presentar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de maní, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas que se producen de manera natural, por ejemplo goma arábiga o goma tragacanto, fosfátidos que se producen de manera natural, por ejemplo soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitano, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo poli(monooleato de oxietilensorbitano). Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

25 Los jarabes y los elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

30 Los compuestos también se pueden administrar en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas habituales, pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao y polietilenglicoles.

35 Para todos los regímenes de uso divulgados aquí para los compuestos de la invención, el régimen de dosificación oral diario será preferentemente de desde 0,01 hasta 200 mg/kg de peso corporal total. La dosificación diaria para la administración mediante inyección, incluyendo inyecciones intravenosas, intramusculares, subcutáneas y parenterales, y el uso de las técnicas de infusión, será preferentemente de desde 0,01 hasta 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación rectal diario será preferentemente de desde 0,01 hasta 200 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación tópica diario será preferentemente de desde 0,1 hasta 200 mg administrados entre una y cuatro veces al día. El régimen de dosificación por inhalación diario será preferentemente de desde 0,01 hasta 10 mg/kg de peso corporal total. Las unidades de dosificación empleadas para proporcionar estos regímenes de dosificación se pueden administrar diariamente, una o más veces, o durante períodos extendidos, como semanal o mensualmente.

40 Los expertos en la técnica apreciarán que el método particular de administración dependerá de una variedad de factores, todos los cuales se consideran rutinariamente cuando se administran productos terapéuticos. El experto en la técnica también apreciará que el nivel de dosis específico para un paciente dado depende de una variedad de factores, incluyendo la actividad específica del compuesto administrado, la edad, el peso corporal, la salud, el sexo, la dieta, el tiempo y la vía de administración, la tasa de excreción, etc. Además, el experto en la técnica apreciará que el curso de tratamiento óptimo, es decir, el modo de tratamiento y el número diario de dosis de un compuesto de la invención durante un número definido de días pueden ser determinados por los expertos en la técnica utilizando pruebas de tratamiento convencionales.

45 Se pueden producir los compuestos a partir de compuestos conocidos (o de materiales de partida que, a su vez, se pueden producir a partir de compuestos conocidos), por ejemplo, a través de los métodos generales preparativos dados a conocer en el presente documento. La actividad de un compuesto dado para inhibir las cinasas raf, p38, o KDR (VEGFR2) puede someterse a ensayo de manera rutinaria, por ejemplo, de acuerdo con los procedimientos dados a conocer en el presente documento.

Sin más elaboración, se entiende que un experto en la técnica puede, a partir de la descripción anterior, utilizar la presente invención en su sentido más amplio. Por tanto, los siguientes ejemplos deben interpretarse como meramente ilustrativos y no limitativos del resto de la descripción de ninguna manera.

5 EJEMPLOS

10 Todas las reacciones se llevaron a cabo en artículos de vidrio secados a llama o secados a horno bajo una presión positiva de argón seco o nitrógeno seco, y se agitaron magnéticamente, a menos que se indique lo contrario. Los líquidos y las disoluciones sensibles se transfirieron a través de una jeringa o una cánula, y se introdujeron en los recipientes de reacción a través de septos de caucho. A menos que se indique lo contrario, el término "concentración a presión reducida" se refiere al uso de un evaporador rotatorio Buchi a aproximadamente 15 mmHg. A menos que se indique lo contrario, el término "en condiciones de alto vacío" se refiere a un vacío de 0,4 - 1,0 mmHg.

15 Todas las temperaturas se notifican sin corregir en grados Celsius (°C). A menos que se indique lo contrario, todas las partes y porcentajes son en peso. Se usaron reactivos y disolventes de calidad comercial sin purificación adicional.

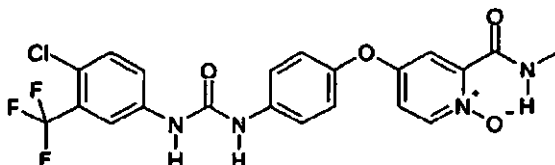
20 La cromatografía de capa fina (TLC) se realiza utilizando placas de gel de sílice con soporte de vidrio previamente recubiertas Whatman® 60A F-254 de 250 µM. La visualización de las placas se realizó mediante una o más de las siguientes técnicas: (a) iluminación ultravioleta, (b) exposición a vapor de yodo, (c) inmersión de la placa en una disolución al 10% de ácido fosfomolibdico en etanol seguida por calentamiento, (d) inmersión de la placa en una disolución de sulfato de cerio seguida por calentamiento, y/o (e) inmersión de la placa en una disolución etanólica ácida de 2,4-dinitrofenilhidrazina seguida por calentamiento. Se realiza cromatografía en columna (cromatografía ultrarrápida) utilizando gel de sílice EM Science® de 230-400 de malla.

25 Se determinan puntos de fusión (pf) utilizando un aparato de punto de fusión Thomas-Hoover o un aparato de punto de fusión automatizado Mettler FP66 y no se corrigen. Se obtienen espectros de infrarrojos de transformada de Fourier utilizando un espectrofotómetro Mattson 4020 de la serie Galaxy. Se miden espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) del protón (¹H) con un espectrómetro General Electric GN-Omega 300 (300 MHz) con o bien Me₄Si (δ 0,00) o bien disolvente protonado residual (CHCl₃ δ 7,26; MeOH δ 3,30; DMSO δ 2,49) como patrón. Se miden espectros de RMN de carbono (¹³C) con un espectrómetro General Electric GN-Omega 300 (75 MHz) con disolvente (CDCl₃ δ 77,0; MeOD-d₃ δ 49,0; DMSO-d₆ δ 39,5) como patrón. Se obtienen espectros de masas (EM) de baja resolución y espectros de masas de alta resolución (EMAR) o bien como espectros de masa por impacto electrónico (EI) o bien como espectros de masas por bombardeo atómico rápido (FAB). Se obtienen espectros de masas por impacto electrónico (EI-EM) con un espectrómetro de masas Hewlett Packard 5989A equipado con una sonda de ionización química por desorción Vacumetrics para la introducción de muestras. Se mantiene la fuente de iones a 250°C. Se realiza la ionización por impacto de electrones con energía electrónica de 70 eV y una corriente de trampa de 300 µA. Se obtienen espectros de masas iónicos secundarios de cesio líquido (FAB-EM), una versión actualizada del bombardeo atómico rápido, utilizando un espectrómetro Kratos Concept 1-H. Se obtienen espectros de masas por ionización química (CI-EM) utilizando un instrumento MS-Engine de Hewlett Packard (5989A) con metano o amoníaco como gas reactivo (de 1x10⁻⁴ torr a 2,5x10⁻⁴ torr). Se lleva la sonda de ionización química de desorción (DCI) de inserción directa (Vacumetrics, Inc.) desde 0-1,5 amperios en 10 segundos y se mantiene a 10 amperios hasta que desaparecen todas las trazas de la muestra (~1-2 minutos). Se barren espectros desde 50-800 amu a 2 segundos por barrido. Se obtienen espectros de masas por electrospray de HPLC (HPLC ES-EM) utilizando un instrumento de HPLC Hewlett-Packard 1100 equipado con una bomba cuaternaria, un detector de longitud de onda variable, una columna C-18, y un espectrómetro de masas de trampa de iones Finnigan LCQ con ionización por electrospray. Se barren los espectros desde 120-800 amu utilizando un tiempo de iones variable según el número de iones en la fuente. Se obtienen espectros de masas selectivos de iones de cromatografía de gases (GC-EM) con un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 equipado con una columna de metilsilicona HP-1 (revestimiento de 0,33 mM; 25 m x 0,2 mm) y un detector selectivo de masas Hewlett Packard 5971 (energía de ionización de 70 eV). Se realizan análisis elementales por Robertson Microlit Labs, Madison NJ.

Todos los compuestos mostraron espectros de RMN, EMBR y o bien análisis elemental o bien EMAR consistentes con las estructuras asignadas.

55 EJEMPLO 1

Preparación de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-[4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil]urea

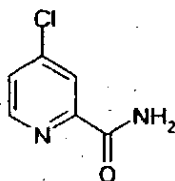


5 A una mezcla agitada de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)(4-piridiloxi)]fenil}urea (500 mg, 1,08 mmol), en una mezcla de CH₂Cl₂ anh. (2,2 mL) y THF anh. (2,2 mL), se le añadió ácido 3-cloroperbenzoico (pureza del 77%, 1,09 g, 4,86 mmol, 4,5 equiv.), y se calentó la mezcla resultante a 40°C durante 33 h. Se concentró la mezcla resultante a presión reducida, y se purificó el producto bruto mediante MPLC (Biotage®; gradiente de desde acetona al 20%/hexano hasta acetona al 50%/hexano). La recristalización en EtOAc produjo N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}urea como un sólido blanco (293 mg, 57%): pf (sin corregir) 232-234°C; TLC (acetona al 50%/hexano) R_f 0,13; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 11,48 (s ancho, 1H), 9,19 (s, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,38 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,64 (dd, J = 8,2 Hz, 2,6 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,28 (dd, J = 5,7 Hz, 2,5 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 2,86 (d, J = 5,0 Hz, 3H); HPLC EI-EM m/z 481 ((M+H)⁺). Análisis calculado para C₂₁H₁₆ClFN₄O₄: C 52,46% H 3,33% N 11,65%. Hallado: C 52,22% H 3,39% N 11,49%.

EJEMPLO 2

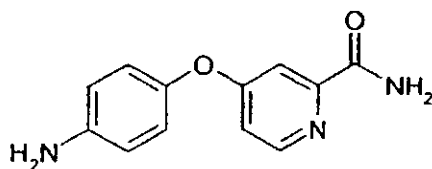
15 Preparación de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}urea

Etapa 1: Preparación de 4-cloro-2-piridincarboxamida



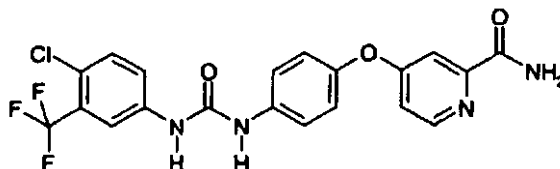
20 A una mezcla agitada de clorhidrato de 4-cloro-2-piridincarboxilato de metilo (1,0 g, 4,81 mmol) disuelto en amoníaco acuoso conc. (32 mL), se le añadió cloruro de amonio (96,2 mg, 1,8 mmol, 0,37 equiv.), y se agitó la mezcla de reacción heterogénea a temperatura ambiente durante 16 h. Se vertió la mezcla de reacción en EtOAc (500 mL) y agua (300 mL). Se lavó la fase orgánica con agua (2 x 300 mL) y una disolución saturada de NaCl (1 x 300 mL), se secó (MgSO₄), se concentró a vacío para dar 4-cloro-2-piridincarboxamida como un sólido beis (604,3 mg, 80,3%): TLC (EtOAc al 50%/hexano) R_f 0,20; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 8,61 (d, J = 5,4 Hz, 1 H), 8,20 (s ancho, 1H), 8,02 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,81 (s ancho, 1H), de 7,76 a 7,73 (m, 1H).

30 Etapa 2: Preparación de 4-(4-aminofenoxi)-2-piridincarboxamida



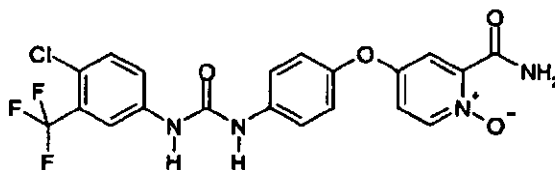
35 A 4-aminofenol (418 mg, 3,83 mmol) en DMF anh. (7,7 mL) se le añadió terc-butóxido de potasio (447 mg, 3,98 mmol, 1,04 equiv.) en una porción. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 h, y después se añadió una disolución de 4-cloro-2-piridincarboxamida (600 mg, 3,83 mmol, 1,0 equiv.) en DMF anh. (4 mL). Se agitó la mezcla de reacción a 80°C durante 3 días y se vertió en una mezcla de EtOAc y una disolución saturada de NaCl. Se lavó la fase orgánica secuencialmente con una disolución saturada de NH₄Cl, después una disolución saturada de NaCl, se secó (MgSO₄), y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto bruto utilizando cromatografía MPLC (Biotage®; gradiente de EtOAc al 100% seguido por MeOH al 10% / EtOAc al 50%/ hexano al 40%) para dar la 4-cloro-5-trifluorometilanilina como un sólido marrón (510 mg, 58%). ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 8,43 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 8,07 (s ancho, 1H), 7,66 (s ancho, 1H), 7,31 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,07 (dd, J = 5,7 Hz, 2,7 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 6,62 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 5,17 (s ancho, 2H); HPLC EI-EM m/z 230 (M+H)⁺.

45 Etapa 3: Preparación de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil}urea



Se agitó una mezcla de 4-cloro-5-trifluorometilaniolina (451 mg, 2,31 mmol, 1,1 equiv.) y 1,1'-carbonildiimidazol (419 mg, 2,54 mmol, 1,2 equiv.) en dicloroetano anh. (5,5 mL) bajo argón a 65°C durante 16 h. Una vez enfriada hasta temperatura ambiente, se añadió una disolución de 4-(4-aminofenoxi)-2-piridincarboxamida (480 mg, 2,09 mmol) en THF anh. (4,0 mL) y se agitó la mezcla de reacción a 60°C durante 4 h. Se vertió la mezcla de reacción en EtOAc, y se lavó la fase orgánica con agua (2x) y una disolución saturada de NaCl (1x), se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó a vacío. La purificación con cromatografía MPLC (Biotage®; gradiente de EtOAc al 100% a MeOH al 2%/EtOAc) produjo N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil)urea como un sólido blanco (770 mg, 82%): TLC (EtOAc) R_f 0,11, acetato de etilo al 100% ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 9,21 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,50 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,69 (s ancho, 1H), 7,64 (dd, J = 8,2 Hz, 2,1 Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 7,14 (m, 1H); EM LC-EM (MH⁺ = 451). Análisis calculado para C₂₀H₁₄ClF₃N₄O₃: C 53,29% H 3,13% N 12,43%. Hallado: C 53,33% H 3,21% N 12,60%.

Etapa 4: Preparación de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil)urea



Se preparó N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil)urea (125,6 mg, 51%) como un sólido blanco a partir de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil) urea (240,0 mg, 0,53 mmol), según se describe para N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil)urea. TLC (MeOH al 5% / CH₂Cl₂) R_f 0,17; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ 10,72 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,36 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,31 (d, J = 4,1 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,65 (dd, J = 8,7 Hz, 2,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,28 (dd, J = 7,2 Hz, 3,8 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 9,0 Hz, 2 H); HPLC EI-EM m/z 467 (M+H)⁺; análisis calculado para C₂₀H₁₄ClF₃N₄O₄ 0,5 H₂O: C 50,49% H 3,18% N 11,78%. Hallado: C 50,69% H 2,86% N 11,47%.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Ensayo de p38 cinasa *in vitro*:

Se determinaron las propiedades inhibitorias *in vitro* de los compuestos utilizando un ensayo de inhibición de la p38 cinasa. Se detectó la actividad de p38 utilizando un ensayo de cinasa *in vitro* ejecutado en placas de microtitulación de 96 pocillos. Se mezcló p38 humana recombinante (0,5 µg/mL) con sustrato (proteína básica de mielina, 5 µg/mL) en tampón cinasa (Hepes 25 mM, MgCl₂ 20 mM y NaCl 150 mM) y compuesto. Se añadió un µCi/pocillo de ATP marcado con ³³P (10 µM) hasta un volumen final de 100 µL. Se realizó la reacción a 32°C durante 30 min. y se detuvo con una disolución de HCl 1 M. Se determinó la cantidad de radiactividad incorporada en el sustrato mediante el atrapamiento del sustrato marcado sobre papel de filtro de fibra de vidrio cargado negativamente utilizando una disolución de ácido fosfórico al 1% y se leyó con un contador de centelleo. Los controles negativos incluyen sustrato más ATP solo.

Producción de TNFα inducida por LPS en ratones:

Se pueden determinar las propiedades inhibitorias *in vivo* de compuestos seleccionados utilizando un modelo *in vivo* de producción de TNFα inducida por LPS murino. Se trataron ratones BALB/c (Charles River Breeding Laboratories; Kingston, NY) en grupos de diez o bien con vehículo o bien con compuesto a través de la vía especificada. Después de una hora, se administró endotoxina (100 µg de lipopolisacárido de *E. coli* (LPS)) por vía intraperitoneal (i.p.). Después de 90 min, se sacrificaron los animales por asfixia con dióxido de carbono y se obtuvo plasma de animales individuales por punción cardiaca en tubos heparinizados. Se aclararon las muestras mediante centrifugación a 12.500 x g durante 5 min a 4°C. Se decantaron los sobrenadantes en nuevos tubos, que se almacenaron, según fue necesario, a -20°C. Se midieron los niveles de TNFα en sueros utilizando un kit ELISA de TNF murino comercial (Genzyme).

Se pueden utilizar los dos ejemplos biológicos anteriores para demostrar que los compuestos inhiben la p38 cinasa *in vitro* e *in vivo* y, por lo tanto, para establecer su utilidad en el tratamiento de enfermedades mediadas por p38, como inflamación y osteoporosis.

Ensayo de raf cinasa *in vitro*:

En un ensayo de cinasa *in vitro*, se incubó raf con MEK en Tris-HCl 20 mM, pH 8,2, que contenía 2-mercaptoetanol 2 mM y NaCl 100 mM. Se mezcló esta disolución proteica (20 µL) con agua (5 µL) o con compuestos diluidos con agua destilada a partir de disoluciones madre 10 mM de compuestos disueltos en DMSO. Se inició la reacción de cinasa añadiendo 25 µL de [γ-³³P]ATP (1000-3000 dpm/pmol) en Tris-HCl 80 mM, pH 7,5, NaCl 120 mM, DTT 1,6 mM, MgCl₂

16 mM. Se incubaron las mezclas de reacción a 32°C, usualmente durante 22 min. Se sometió a ensayo la incorporación de ³³P en proteína recogiendo la reacción sobre felpas de fosfocelulosa, eliminando por lavado cuentas libres con una disolución de ácido fosfórico al 1% y cuantificando la fosforilación mediante conteo de centelleo líquido. Para la selección de alto rendimiento, se usan ATP 10 µM y MEK 0,4 µM. En algunos experimentos, se detiene la reacción de la cinasa mediante la adición de una cantidad igual de tampón de muestra Laemmli. Se hierven muestras 3 min y se resuelven las proteínas mediante electroforesis en geles Laemmli al 7,5%. Se fijaron los geles, se secaron y se expusieron a una placa de obtención de imágenes (Fuji). Se analizó la fosforilación usando un sistema analizador de obtención de bioimágenes Fujix. Los compuestos de los ejemplos 1 y 2 muestran una inhibición >50% a 10 micromolares en este ensayo, lo que es una marcada inhibición de la raf cinasa *in vitro*.

Ensayo de proliferación de células tumorales:

Para el ensayo de crecimiento *in vitro*, se usaron líneas de células tumorales humanas, incluyendo, pero sin limitarse a, HCT116 y DLD-1, que contenían genes K-ras mutados, en ensayos de proliferación convencionales para determinar el crecimiento dependiente de anclaje sobre plástico o crecimiento independiente de anclaje en agar blando. Se obtuvieron líneas celulares tumorales humanas de ATCC (Rockville MD) y se mantuvieron en RPMI con suero bovino fetal inactivado por calor al 10% y glutamina 200 mM. Se obtuvieron medios de cultivo celular y aditivos de Gibco/BRL (Gaithersburg, MD), excepto el suero bovino fetal (JRH Biosciences, Lenexa, KS). En un ensayo de proliferación convencional para determinar el crecimiento dependiente de anclaje, se sembraron 3 X 10³ células en placas de cultivo tisular de 96 pocillos y se dejó que se adhirieran durante la noche a 37°C en una incubadora con un 5% de CO₂. Se titularon los compuestos en medios en series de dilución y se añadieron a cultivos celulares de 96 pocillos. Se dejó que las células crecieran durante 5 días, típicamente, con una alimentación de medio que contenía compuesto reciente al tercer día. Se monitorizó la proliferación midiendo la actividad metabólica con un ensayo colorimétrico XTT convencional (Boehringer Mannheim) medida mediante un lector de placas ELISA estándar a una DO de 490/560, recogiendo las células en felpas de fibra de vidrio utilizando un colector de células y midiendo la incorporación de ³H-timidina por conteo de centelleo líquido.

Para el crecimiento celular independiente de anclaje, se sembraron células en placas a de 1 x 10³ a 3 x 10³ en agarosa Seaplaque al 0,4% en medios completos RPMI, depositando una capa de fondo que contenía solo agar al 0,64% en medios completos RPMI en placas de cultivo tisular de 24 pocillos. Se añadieron medios completos más series de dilución de compuestos a los pocillos y se incubaron a 37°C en una incubadora con un 5% de CO₂ durante 10-14 días con alimentaciones repetidas de medios recientes que contenían compuesto a intervalos de 3-4 días. Se monitorizó la formación de colonias y se cuantificó la masa celular total, el tamaño promedio de las colonias y el número de colonias utilizando tecnología de captura de imágenes y un programa de análisis de imágenes (Image Pro Plus, media Cybernetics).

Los dos ensayos anteriores establecen que los compuestos de fórmula I son activos para inhibir la actividad de la raf cinasa y para inhibir el crecimiento celular oncogénico.

Ensayo de KDR (VEGFR2):

El dominio cinasa citosólico de la KDR cinasa se expresa como una proteína de fusión 6His en células de insecto Sf9. Se purifica la proteína de fusión de dominio de KDR cinasa en una columna quelante Ni⁺⁺. Se recubren placas ELISA de noventa y seis pocillos con 5 µg de poli(Glu4;Tyr1) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) en 100 µl de tampón HEPES (HEPES 20 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, Thimerosal al 0,02%) a 4° durante la noche. Antes de su uso, se lava la placa con HEPES, tampón de NaCl y se bloquean las placas con BSA al 1%, Tween 20 al 0,1% en HEPES, tampón de NaCl.

Se diluyen los compuestos de ensayo en serie en DMSO al 100% desde 4 mM hasta 0,12 µM en diluciones de medio log. Se diluyen adicionalmente estas diluciones veinte veces en H₂O para obtener disoluciones de compuesto en DMSO al 5%. Después de cargar la placa de ensayo con 85 µl de tampón de ensayo (HEPES 20 mM, pH 7,5, KCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, MnCl₂ 3 mM, glicerol al 0,05%, Triton X-100 al 0,005%, mercaptoetanol 1 mM, con o sin ATP 3,3 µM), se añaden 5 µl de los compuestos diluidos hasta un volumen de ensayo final de 100 µl. Las concentraciones finales son de entre 10 µM y 0,3 nM en DMSO al 0,25%. Se inicia el ensayo mediante la adición de 10µl (30 ng) de dominio de KDR cinasa.

Se incuba el ensayo con compuesto de ensayo o vehículo solo con agitación suave a temperatura ambiente durante 60 minutos. Se lavan los pocillos y se analizan las fosfotirosinas (PY) con un AcM antifosfotirosina (PY), clon 4G10 (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY). Se detectan complejos de PY/anti-PY con un conjugado de IgG anti-ratón/HRP (Amersham International, plc, Buckinghamshire, Inglaterra). Se cuantifica la fosfotirosina mediante incubación con 100 µl de disolución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (Kirkegaard and Perry, sustrato de peroxidasa monocomponente de micropocillo de TMB). Se detiene el desarrollo del color mediante la adición de 100 µl de disolución de parada basada en HCl al 1% (Kirkegaard and Perry, disolución de parada monocomponente de TMB).

Se determinan densidades ópticas espectrofotométricamente a 450 nm en un lector de placas de 96 pocillos, SpectraMax 250 (Molecular Devices). Se restan los valores de DO de fondo (sin ATP en el ensayo) de todas las DO y se calcula el porcentaje de inhibición de acuerdo con la ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{DO}(\text{control vehículo}) - \text{DO}(\text{con compuesto})) \times 100}{\text{DO}(\text{control vehículo}) - \text{DO}(\text{sin ATP añadido})}$$

5 Los valores de CI_{50} se determinan con un programa de análisis de mínimos cuadrados utilizando la concentración del compuesto frente al porcentaje de inhibición.

Ensayo mecanístico celular – inhibición de la fosforilación de 3T3 KDR:

10 Se hacen crecer células NIH3T3 que expresan el receptor de KDR de longitud completa en DMEM (Life Technologies, Inc., Grand Island, NY) complementado con suero de ternero recién nacido al 10%, baja concentración de glucosa, piruvato de sodio 25 mM/L, clorhidrato de piridoxina y 0,2 mg/ml de G418 (Life Technologies Inc., Grand Island, NY). Se mantienen las células en matraces T75 recubiertos con colágeno I (Becton Dickinson Labware, Bedford, MA) en una atmósfera de CO_2 al 5% humidificada a 37°C.

15 Se siembran quince mil células en cada pocillo de una placa de 96 pocillos recubierta con colágeno I en el medio de crecimiento DMEM. A las seis horas, se lavan las células y se reemplaza el medio por DMEM sin suero. Después del cultivo durante la noche para someter las células a quescencia, se reemplaza el medio por una solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (Life Technologies Inc., Grand Island, NY) con albúmina bovina al 0,1% (Sigma Chemical Co., St Louis, MO). Después de la adición de varias concentraciones (0-300 nM) de compuestos de ensayo a las células en una concentración final del 1% de DMSO, se incuban las células a temperatura ambiente durante 30 minutos. Entonces se tratan las células con VEGF (30 ng/ml) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de la estimulación de VEGF, se retira el tampón y se lisan las células mediante la adición de 150 μ l de tampón de extracción (Tris 50 mM, pH 7,8, complementado con glicerol al 10%, BGP 50 mM, EDTA 2 mM, NaF 10 mM, $NaVO_4$ 0,5 mM y TX-100 al 0,3%) a 4°C durante 30 minutos.

25 Para evaluar la fosforilación del receptor, se añaden 100 microlitros de cada lisado celular a los pocillos de una placa ELISA recubierta previamente con 300 ng de anticuerpo C20 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA). Después de una incubación de 60 minutos, se lava la placa y se analiza la KDR adherida para detectar fosfotirosina utilizando un clon 4G10 de AcM anti-fosfotirosina (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY). Se lava la placa y se incuban los pocillos con un conjugado de IgG anti-ratón/HRP (Amersham International plc, Buckinghamshire, Inglaterra) durante 60 minutos. Se lavan los pocillos y se cuantifica la fosfotirosina mediante la adición de 100 μ l por pocillo de una disolución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (Kirkegaard and Perry, sustrato de peroxidasa monocomponente de micropocillo de TMB). Se detiene el desarrollo del color mediante la adición de 100 μ l de una disolución de parada basada en HCl al 1% (Kirkegaard and Perry, disolución de parada monocomponente de TMB).

30 Se determinan las densidades ópticas (DO) espectrofotométricamente a 450 nm en un lector de placas de 96 pocillos (SpectraMax 250, Molecular Devices). Se restan los valores de DO de fondo (sin VEGF añadido) de todas las DO y se calcula el porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{DO}(\text{control de VEGF}) - \text{DO}(\text{con compuesto de ensayo})) \times 100}{\text{DO}(\text{control de VEGF}) - \text{DO}(\text{sin de VEGF añadido})}$$

40 Se determinan las CI_{50} en algunos de los materiales a modo de ejemplo con un programa de análisis de mínimos cuadrados utilizando la concentración del compuesto frente al porcentaje de inhibición.

Ensayo *in vivo* de inhibición de VEGFR: modelo de angiogénesis Matrigel®:

45 Preparación de tapones Matrigel y fase *in vivo*: Matrigel® (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA) es un extracto de membrana basal de un tumor murino compuesto principalmente por laminina, colágeno IV y proteoglicano de sulfato de heparano. Se proporciona como un líquido estéril a 4°C, pero rápidamente forma un gel sólido a 37°C.

50 Se mezcla Matrigel líquido a 4°C con células tumorales humanas SK-MEL2 que están transfectadas con un plásmido que contiene el gen de VEGF murino con un marcador seleccionable. Se hacen crecer las células tumorales *in vitro* selectivamente y se mezclan las células con líquido Matrigel frío a una proporción de 2×10^6 por 0,5 ml. Se implanta medio mililitro por vía subcutánea cerca de la línea media abdominal utilizando una aguja de calibre 25. Se dosifican compuestos de ensayo como disoluciones en etanol/Cremaphor EL/solución salina (12,5%:12,5%:75%) a 30, 100 y 300 mg/kg p.o. una vez al día desde el día de la implantación. Se sacrifican los ratones a los 12 días tras la implantación y se recogen gránulos de Matrigel para analizar el contenido de hemoglobina.

55 Ensayo de hemoglobina: se colocan gránulos de Matrigel en 4 volúmenes (p/v) de tampón de lisis a 4° C (Tris 20 mM pH 7,5, EGTA 1 mM, EDTA 1 mM, Triton X-100 al 1% [EM Science, Gibbstown, N.J.], y un cóctel inhibidor de proteasas libre de EDTA, completo [Mannheim, Alemania]), y se homogenizan a 4°C. Se incuban los homogenizados en hielo durante 30 minutos con agitación y se centrifugan a 14K x g durante 30 minutos a 4°C. Se transfieren los sobrenadantes a tubos de microcentrifugadora helados y se almacenan a 4°C para el ensayo de hemoglobina.

60 Se suspende hemoglobina de ratón (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) en agua sometida a autoclave (BioWhittaker, Inc, Walkersville, MD.) a 5 mg/ml. Se genera una curva patrón desde 500 microgramos/ml hasta 30 microgramos/ml en tampón de lisis (véase anteriormente). Se añaden muestras de lisado y de curva patrón a 5 microlitros/pocillo por

duplicado a una placa de 96 pocillos de poliestireno. Utilizando el kit de hemoglobina en plasma de Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), se reconstituye el sustrato de TMB en 50 ml de disolución de ácido acético a temperatura ambiente. Se añaden cien microlitros de sustrato a cada pocillo, seguido por 100 microlitros/pocillo de una disolución de peróxido de hidrógeno a temperatura ambiente. Se incuba la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos.

5 Se determinan las densidades ópticas espectrofotométricamente a 600 nm en un lector de placas de 96 pocillos, SpectraMax 250 Microplate Spectrophotometer System (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Se restan lecturas de tampón de lisis de fondo de todos los pocillos. Se calcula el contenido total de hemoglobina de la muestra de acuerdo con la siguiente ecuación:

10
$$\text{Hemoglobina total} = (\text{Volumen de lisado de muestra}) \times (\text{concentración de hemoglobina})$$

Se resta la hemoglobina total promedio de muestras Matrigel sin células de la hemoglobina total de cada muestra Matrigel con células. Se calcula el porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente ecuación:

15
$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{hemoglobina total promedio de lisados tumorales tratados con fármaco}) \times 100}{(\text{hemoglobina total promedio de lisados tumorales no tratados})}$$

Los tres ensayos anteriores establecen que los compuestos de fórmula I son activos para inhibir la actividad cinasa del receptor de VEGF y para inhibir la angiogénesis.

20 **Ensayo *in vivo* de actividad antitumoral:**

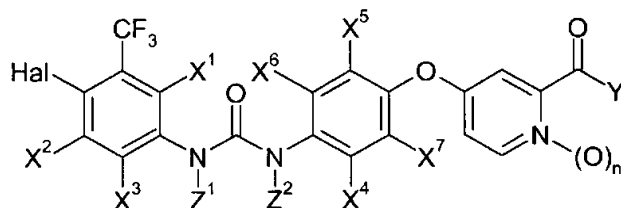
Se puede realizar un ensayo *in vivo* del efecto inhibitorio de los compuestos sobre tumores (por ejemplo, cánceres sólidos) mediados por la raf cinasa de la siguiente manera: se inyectan por vía subcutánea a ratones CDI nu/nu (6-8 semanas de edad) en el costado a 1×10^6 células, una línea celular de adenocarcinoma de colon humano. Se administran dosis a los ratones i.p., i.v. o p.o. a 10, 30, 100 ó 300 mg/Kg a partir del día 10 aproximadamente, cuando el tamaño del tumor es de entre 50-100 mg. Se administran dosis a los animales durante 14 días consecutivos; se monitoriza el tamaño del tumor con calibradores dos veces por semana. También se puede demostrar *in vivo* el efecto inhibitorio de los compuestos sobre p38, raf y VEGFR cinasas y, por lo tanto, sobre el crecimiento tumoral (por ejemplo, cánceres sólidos) según la técnica de Monia *et al.* (Nat. Med. 1996, 2, 668-75).

30 Se pueden repetir los ejemplos anteriores con éxito similar sustituyendo los reactivos y/o las condiciones operativas utilizados en los ejemplos anteriores por los descritos de manera genérica o específica de esta invención.

35 A partir de la descripción anterior, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las características esenciales de esta invención, puede realizar diversos cambios y modificaciones a la invención para adaptarla a diversas condiciones y usos.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I),



(I)

5 en la que,
 Y es OR¹ o NHR²,
 Hal es cloro o bromo,
 R¹ es H o alquilo C₁-C₆
 R² es H, OH, CH₃ o CH₂OH,
 10 Z¹ y Z² son cada uno H u OH, en los que solo uno de Z¹ o Z² puede ser OH.
 de X¹ a X⁷ son cada uno, independientemente, H, OH u O(CO)alquilo C₁-C₄, y
 n es 0 ó 1,

15 con la condición de que se cumpla al menos una de las condiciones a-c,

- 15 a) Z¹ o Z² es OH,
 b) Y es NHR² y R² es OH,
 c) n es 1,

20 o una sal del mismo, o un estereoisómero aislado del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que n de la fórmula I es 1 y o bien

25 a) Y es NHR² y R² es H o CH₃, y o bien

- 25 i) de X¹ a X⁷ son cada uno H, o
 ii) Z¹ y Z² son cada uno H, o
 iii) Z¹ es H y Z² es OH o Z¹ es OH y Z² es H, o
 iv) de X¹ a X⁷ y Z¹ son cada uno H y Z² es OH o
 30 v) de X¹ a X⁷ y Z² son cada uno H y Z¹ es OH;

- b) Y es NHR² y R² es CH₂OH u OH o
 c) Y es OH.

35 3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que

- 35 a) n es 0, y
 b) o bien Z¹ es H y Z² es OH o Z¹ es OH y Z² es H y
 40 c) o bien
 i) R² es H o CH₃, o
 ii) de X¹ a X⁷ son cada uno H, o
 iii) al menos uno de X¹ a X⁷ es OH, o
 iv) al menos uno de X¹ a X⁷ es O(CO)alquilo C₁-C₄, o
 45 v) R₂ es CH₂OH u OH o
 vi) Y es OH.

4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que en la fórmula (I),

- 50 a) n es 0, y
 b) Y es NHR² y R² es OH y
 c) o bien

- 55 i) de X¹ a X⁷ son cada uno H, o
 ii) Z¹ es H y Z² es OH, o
 iii) Z¹ es OH y Z² es H, o
 iv) al menos uno de X¹ a X⁷ es OH o
 v) al menos uno de X¹ a X⁷ es O(CO)alquilo C₁-C₄.

5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que en la fórmula (I),

- a) n es 0 y
 b) Y es OH y
 c) o bien
 i) de X^1 a X^7 son cada uno H, o
 ii) Z^2 es H y Z^1 es OH, o
 iii) Z^1 es H y Z^2 es OH, o
 iv) al menos uno de X^1 a X^7 es OH, o
 v) al menos uno de X^1 a X^7 es O(CO)alquilo C_1 - C_4 .

6. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

- 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida,
 sales de los mismos y estereoisómeros de los mismos.

7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de X^1 , X^2 y X^3 es H.

8. Compuesto según la reivindicación 7, en el que en la fórmula (II), n es 1, y o bien

- i) Z^1 y Z^2 son cada uno H, o
 ii) al menos uno de X^4 a X^7 es OH, o
 iii) Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 .

9. Compuesto según la reivindicación 7, en el que en la fórmula (II), n es 0 y o bien

- i) Z^1 es H y Z^2 es OH, o
 ii) Z^1 es OH y Z^2 es H, o
 iii) Z^1 y Z^2 son cada uno H, y al menos uno de X^4 a X^7 es OH, o
 iv) al menos uno de X^4 a X^7 es OH, o
 v) Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 , o
 vi) Y es NHR^2 y R^2 es OH.

10. Compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de X^1 - X^7 es H.

11. Compuesto según la reivindicación 10, en el que en la fórmula (III), o bien

- a) Y es NHR^2 y R^2 es H o CH_3 , y o bien:
 i) n es 1 y Z^1 y Z^2 son cada uno H, o
 ii) n es 0 y Z^1 es H y Z^2 es OH o Z^1 es OH y Z^2 es H o

b) Y es OH.

12. Método para preparar compuestos según la reivindicación 1, que comprende la oxidación de

- 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, o
 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida, o
 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida, o
 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida;
 en el que la oxidación

- a) reemplaza uno o más de los hidrógenos de fenilo en las posiciones representadas por de X^1 a X^7 por un grupo hidroxilo, que está opcionalmente esterificado,
 b) hidroxila la N-metilamida para dar una hidroximetilamida o un ácido hidroxámico,
 c) desmetila la N-metilamida para dar una amida no sustituida,
 d) reemplaza uno o más de los nitrógenos de la urea (=NH) con un grupo hidroxilo para formar una N-hidroxiurea (=NOH),
 e) hidroliza la N-metilamida para dar un ácido carboxílico,
 f) oxida el nitrógeno del anillo de piridilo para formar el 1-óxido de piridina correspondiente, o

g) proporciona una combinación de dos o más de a) - f);

con la condición de que se realice al menos una de b), d) y f).

5 13. Método según la reivindicación 12, que prepara

1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida, o
 una sal farmacéuticamente aceptable de uno de esos óxidos, o un estereoisómero aislado de uno de esos
 óxidos.

14. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto según una cualquiera de
 las reivindicaciones 1 a 6 y un vehículo fisiológicamente aceptable.

15. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de

1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-N-metil-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida,
 1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino]carbonil]amino]fenoxi}-2-piridin-carboxamida, o

una sal farmacéuticamente aceptable de uno de esos óxidos, un estereoisómero aislado de uno de esos óxidos
 o una mezcla de los mismos y un vehículo fisiológicamente aceptable.

16. Uso de una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y opcionalmente,
 un vehículo fisiológicamente aceptable, para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir osteoporosis,
 inflamación, y trastornos de angiogénesis, con excepción de cáncer, en un mamífero.

17. Uso de una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la fabricación
 de un medicamento para tratar o prevenir un trastorno hiperproliferativo en un mamífero.

18. Uso de a) una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y b) un agente
 antiproliferativo adicional, y opcionalmente, c) un vehículo fisiológicamente aceptable, para la fabricación de un
 medicamento para tratar o prevenir un trastorno hiperproliferativo en un mamífero, que comprende la administración a
 dicho mamífero.

19. Uso según la reivindicación 18, en el que el agente antiproliferativo adicional se encuentra dentro de una
 composición farmacéutica separada de la composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un
 compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y un vehículo fisiológicamente aceptable opcional.

20. Uso según la reivindicación 18 ó 19, en el que el agente antiproliferativo adicional se selecciona del grupo que
 consiste en asparaginasa, bleomicina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida,
 citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina (adriamicina), epirubicina, etopósido, 5-
 fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiaurea, ifosfamida, irinotecán, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-
 mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno,
 estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecán, vinblastina, vincristina, vindesina, aminoglutetimida, L-asparaginasa,
 azatioprina, 5-azacitidina, cladribina, busulfano, dietilestilbestrol, 2',2'-difluorodesoxicidina, docetaxel,
 eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, fosfato de
 fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarubicina, interferón, acetato de
 medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mitotano, paclitaxel, oxaliplatino, gemcitabona, gefinitib, taxotere,
 BCNU, CCNU, DTIC, ara A, ara C, herceptina, actinomicina D, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA),
 plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina y vinorelbina.

21. Uso de

- a) una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y
- b) un agente citotóxico o un agente quimioterápico citostático, y
- c) opcionalmente un vehículo fisiológicamente aceptable

para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir el cáncer.

22. Uso según la reivindicación 21, en el que el agente citotóxico o el agente quimioterápico citostático administrado
 está dentro de una composición farmacéutica separada de la composición farmacéutica que comprende una cantidad
 eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y un vehículo fisiológicamente aceptable.

23. Uso de un método según la reivindicación 21 ó 22, en el que el agente quimioterápico citostático o citotóxico se seleccionan del grupo que consiste en inhibidores de ADN topoisomerasa I y II, intercaladores de ADN, agentes alquilantes, disruptores de microtúbulos, agonistas y antagonistas del receptor del factor hormonal y de crecimiento, otros inhibidores de cinasas y antimetabolitos.

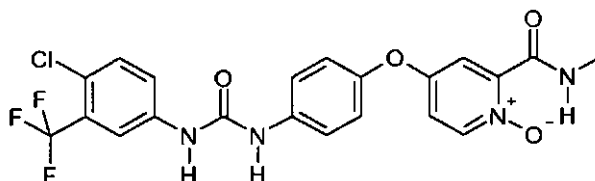
5

24. Kit que comprende a) una dosis de un agente citotóxico o citostático y, b) una dosis de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

10

25. Método para preparar

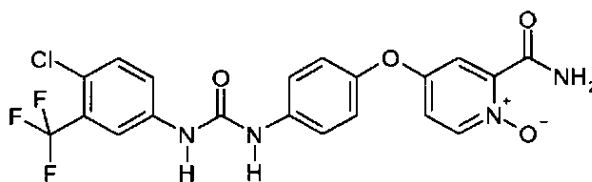
a) N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-(N-metilcarbamoi)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil)urea



15

que comprende oxidar químicamente N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-(N-metilcarbamoi)(4-piridiloxi)]fenil)urea en disolución, o

b) N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoi-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil)urea



20

que comprende oxidar químicamente N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoi-(4-piridiloxi)]fenil)urea en disolución.

26. Composición farmacéutica según la reivindicación 14 ó 15, para su uso para tratar o prevenir osteoporosis, inflamación, y trastornos de angiogénesis, con excepción de cáncer, en un mamífero.

25

27. Composición farmacéutica según la reivindicación 14 ó 15, para uso para tratar o prevenir un trastorno hiperproliferativo en un mamífero.