

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 027**

51 Int. Cl.:
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05815246 .3**
96 Fecha de presentación: **28.10.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1807424**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.07.2007**

54 Título: **Inhibidores de quinasas novedosos**

30 Prioridad:
29.10.2004 US 623175 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.08.2012

73 Titular/es:
**ABBOTT LABORATORIES
DEPT. 377 BLDG. AP6A-1, 100 ABBOTT PARK
ROAD
ABBOTT PARK, ILLINOIS 60064-3500, US**

72 Inventor/es:
**DAI, Yujia;
HARTANDI, Kresna y
MICHAELIDES, Michael, M.**

74 Agente/Representante:
Ungría López, Javier

ES 2 386 027 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

Inhibidores de Quinasas Novedosos.

5 **Campo Técnico**

La presente invención se refiere a compuestos que son útiles para la inhibición de proteínas tirosina quinasas, métodos para elaborar los compuestos, composiciones que contienen los compuestos, y usos de los mismos.

10 **Antecedentes de la Invención**

Las proteínas tirosina quinasas (PTK) son enzimas que catalizan la fosforilación de residuos de tirosina específicos en proteínas celulares. Esta modificación post-traducciona de estas proteínas sustrato, a menudo las propias enzimas, actúa como un interruptor molecular que regula la proliferación, la activación, o la diferenciación celular. Se ha observado actividad de PTK aberrante o excesiva en muchos estados de enfermedad incluyendo trastornos proliferativos benignos y malignos así como enfermedades resultantes de la activación inapropiada del sistema inmunitario (p. ej., trastornos autoinmunitarios), rechazo de aloinjertos, y enfermedad de injerto contra anfitrión. Además, las PTK receptoras específicas de células endoteliales tales como KDR y Tie-2 median el proceso angiogénico, y están implicadas de este modo en el soporte del progreso de cánceres y otras enfermedades que implican vascularización inapropiada (p. ej., retinopatía diabética, neovascularización coroidal debida a la degeneración macular relacionada con la edad, psoriasis, artritis, retinopatía del prematuro, y hemangiomas infantiles).

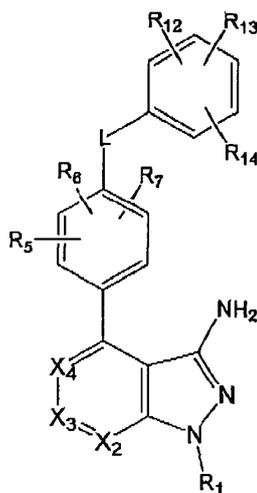
Por lo tanto es deseable la identificación de compuestos pequeños eficaces que inhiban específicamente la transducción de señales y la proliferación celular por medio de la modulación de la actividad de las tirosina quinasas para regular y modular la proliferación, la diferenciación, o el metabolismo celular anómalos o inapropiados. En particular, podría ser beneficiosa la identificación de métodos y compuestos que inhiban específicamente la función de una tirosina quinasa que es esencial para los procedimientos angiogénicos o la formación de hiperpermeabilidad vascular que conduce a edema, ascitis, efusiones, exudados, y extravasación macromolecular y depósitos de matriz así como trastornos asociados.

El documento WO 03/080064 (A1) describe ciertas pirazolopirimidinas y furopirimidinas sustituidas, que son útiles como inhibidores de quinasas.

35 Asimismo el documento WO 01/019828 (A1) describe compuestos heterocíclicos, entre otros de las clases anteriormente mencionadas, útiles como inhibidores de quinasas.

Compendio de la Invención

40 En su realización principal la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo donde

X₂ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₂;

45 X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₃;

X₄ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₄;

siempre que solo uno de X₂, X₃, y X₄ sea N;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno o metilo;

P₂, R₃, R₄, R₅, R₆, y R₇ son hidrógeno;

5 L es -NHC(O)NH-;

R₁₂, R₁₃, y R₁₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alcoxi, alquilo, haloalquilo, y halógeno; con la condición de que

el término "alquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 10 átomos de carbono,

10 el término "alcoxi" según se utiliza en la presente memoria, significa un grupo alquilo, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un átomo de oxígeno,

el término "haloalquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa al menos un halógeno, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un grupo alquilo, según se define en la presente memoria,

15 el término "halo" o "halógeno" según se utiliza en la presente memoria, significa -Cl, -Br, -I o -F.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, combinado con un portador terapéuticamente aceptable.

20 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer en un paciente.

Descripción Detallada de la Invención

25 En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) donde X₂ es N; X₃ es CR₃; X₄ es CR₄; R₁ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo; R₃, R₄, R₅, R₆, y R₇ son hidrógeno; R₁₂, R₁₃, y R₁₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alcoxi, alquilo, haloalquilo, y halógeno; L es (CH₂)_mN(R₁₀)C(O)N(R₁₁)(CH₂)_n; m es 0; n es 0; y R₁₀ y R₁₁ son hidrógeno.

30 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) donde X₂ es CR₂; X₃ es N; X₄ es CR₄; R₁ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo; R₂, R₄, R₅, R₆, y R₇ son hidrógeno; R₁₂, R₁₃, y R₁₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alcoxi, alquilo, haloalquilo, y halógeno; L es (CH₂)_mN(R₁₀)C(O)N(R₁₁)(CH₂)_n; m es 0; n es 0; y R₁₀ y R₁₁ son hidrógeno.

35 En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) donde X₂ es CR₂; X₃ es CR₃; X₄ es N; R₁ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo; R₂, R₃, R₅, R₆, y R₇ son hidrógeno; R₁₂, R₁₃, y R₁₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alcoxi, alquilo, haloalquilo, y halógeno; L es (CH₂)_mN(R₁₀)C(O)N(R₁₁)(CH₂)_n; m es 0; n es 0; y R₁₀ y R₁₁ son hidrógeno.

40 Según se utiliza a lo largo de esta memoria y de las reivindicaciones adjuntas, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

45 El término "alcoxi" según se utiliza en la presente memoria, significa un grupo alquilo, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

50 El término "alquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no están limitados a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-etilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, y n-decilo.

El término "halo" o "halógeno" según se utiliza en la presente memoria, significa -Cl, -Br, -I o -F.

55 El término "haloalquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa al menos un halógeno, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un grupo alquilo, según se define en la presente memoria. Los ejemplos representativos de haloalquilo incluyen, pero no están limitados a, clorometilo, 2-fluoroetilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo, y 2-cloro-3-fluoropentilo.

60 Los compuestos de la presente invención pueden existir en forma de sales terapéuticamente aceptables. El término "sal terapéuticamente aceptable", según se utiliza en la presente memoria, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente invención que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son adecuadas para el tratamiento de enfermedades sin toxicidad, irritación, y respuesta alérgica indebidas; que están conmensuradas con una razón beneficio/riesgo razonable, y que son eficaces para su uso pretendido. Las sales se pueden preparar durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos o separadamente haciendo

reaccionar un grupo $-NR^aR^b$ con un ácido adecuado. Las sales de adición de ácido representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metanosulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, paratoluenosulfonato, y undecanoato. Asimismo, los grupos amino de los compuestos de la presente invención se pueden cuaternarizar con cloruros, bromuros, y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo; cloruros, bromuros, y yoduros de decilo, laurilo, miristilo, y estearilo; y bromuros de bencilo y fenetilo. Los ejemplos de los ácidos que se pueden emplear para formar las sales de adición terapéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, y fosfórico, y ácidos orgánicos tales como oxálico, maleico, succínico, y cítrico.

Cuando es posible que, para su uso en terapia, se puedan administrar cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de fórmula (I), así como sales terapéuticamente aceptables del mismo como materia prima, es posible presentar el ingrediente activo en forma de una composición farmacéutica. Por lo tanto, la invención proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de fórmula (I),

o sales terapéuticamente aceptables de los mismos, y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y las sales terapéuticamente aceptables de los mismos se describen más adelante. El portador o los portadores, el diluyente o los diluyentes, y el excipiente o los excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la invención también se proporciona un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, con uno o más portadores, diluyentes o excipientes terapéuticamente aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosificación unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Tal unidad puede contener, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, preferiblemente de 1 mg a 700 mg, más preferiblemente de 5 mg a 100 mg de un compuesto de fórmula (I) o (II), dependiendo de la afección que esté siendo tratada, de la gravedad de la afección, el tiempo de administración, la ruta de administración, la tasa de excreción del compuesto empleado, la duración del tratamiento, y la edad, el género, el peso, y el estado del paciente, o las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosificación unitaria que contienen una cantidad predeterminada de un ingrediente activo por dosis. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria, como se ha mencionado anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Además, tales formulaciones farmacéuticas se pueden preparar por medio de cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para su administración por medio de cualquier ruta apropiada, por ejemplo por la ruta oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual, o transdérmica), vaginal, o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, o intradérmica). Tales formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo asociado el ingrediente activo con el portador o los portadores o el excipiente o los excipientes. Además, los compuestos de la presente invención se pueden administrar utilizando tecnología de liberación de fármacos convencional, por ejemplo, endoprótesis "stents" intra-arteriales.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o cremas batidas comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite.

Por ejemplo, para su administración oral en forma de comprimido o cápsula, el componente fármaco activo se puede combinar con un portador inerte terapéuticamente aceptable no tóxico, oral tal como etanol, glicerol, agua, y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un portador farmacéutico triturado de un modo similar tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes, y colorantes.

Las cápsulas se elaboran preparando una mezcla de polvo, como se ha descrito anteriormente, y rellenando vainas de gelatina formadas. Se pueden añadir antiapelmazantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, o polietilenglicol sólido a la mezcla de polvo antes de la operación de rellenado. También se puede añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio, o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Por otra parte, cuando se desea o es necesario, también se pueden incorporar a la mezcla agentes aglutinantes, lubricantes, disgregantes, y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio, y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana, y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvo, granulando o compactando, añadiendo un lubricante y un disgregante, y presionando para obtener comprimidos. Se prepara una mezcla de polvo mezclando el compuesto, triturado adecuadamente, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelificante, o polivinilpirrolidona, un retardador de la disolución tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente absorbente tal como bentonita, caolín, o fosfato dicálcico. La mezcla de polvo se puede granular humedeciéndola con un aglutinante tal como un jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia, o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede hacer pasar a través de la máquina de comprimidos y el resultado son pepitas formadas imperfectamente rotas en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para prevenir la adherencia de los troqueles que forman los comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal estearato, talco, o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime a continuación para formar comprimidos. Los compuestos de la presente invención se pueden combinar también con un portador inerte de flujo libre y comprimir para formar comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o compactación. Se puede proporcionar un revestimiento protector transparente u opaco que consiste en una capa de sellado de goma laca, un revestimiento de azúcar o material polimérico, y un revestimiento pulido de cera. Se pueden añadir colorantes a estos revestimientos para distinguir diferentes unidades de dosificación.

Se pueden preparar líquidos orales tales como soluciones, jarabes, y elixires en una forma de dosificación unitaria de manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada adecuadamente, mientras que los elixires se preparan a través del uso de un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isostearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos de aroma tales como aceite de menta o edulcorantes naturales, o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea apropiado, las formulaciones de dosificación unitaria para su administración oral se pueden microencapsular. La formulación se puede preparar también para prolongar o mantener la liberación por ejemplo revistiendo o embebiendo el material particulado en polímeros, cera, o similares.

Los compuestos de fórmula (I), y las sales terapéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden administrar en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes, y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina, o fosfatidilocolinas.

Los compuestos de fórmula (I), y las sales terapéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden liberar mediante el uso de anticuerpos monoclonales como portadores individuales a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos también se pueden acoplar a polímeros solubles en forma de portadores de fármacos dirigibles. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxiopropilmetacrilamidofenol, polihidroxiethylaspartamidofenol, o polietileno oxidopolililina sustituida con residuos de palmitoilo. Además, los compuestos se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, poli(ácido láctico), poliépsilon caprolactona, poli(ácido hidroxibutírico), poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos, y copolímeros de bloques entrecruzados o anfipáticos de hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden presentar en forma de parches discretos destinados a permanecer en íntimo contacto con la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede liberar del parche mediante iontoforesis como se describe generalmente en *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica se pueden formular en forma de pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles, o aceites.

Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, las formulaciones se aplican preferiblemente en forma de una pomada o crema tópica. Cuando se fórmula en una pomada, el ingrediente activo se puede emplear con una base para pomada parafínica o miscible con agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base para crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas al ojo incluyen gotas oculares donde el ingrediente activo se disuelve o suspende en un portador adecuado, especialmente en un disolvente acuoso.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen grageas, pastillas, y colutorios.

- 5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal se pueden presentar en forma de supositorios o en forma de enemas.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal donde el portador es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micras que se administra de la manera en la que se toma el rapé, es decir, mediante una rápida inhalación a través del conducto nasal desde un contenedor de polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el portador es un líquido, para su administración en forma de una pulverización nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo.

- 15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración mediante inhalación incluyen espolvoreables o nieblas de partículas finas, que se pueden generar por medio de diversos tipos de aerosoles, nebulizadores, o insufladores de dosis presurizada, medida.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal se pueden presentar en forma de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones de pulverización.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que puede contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostáticos, y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensores y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de una sola dosis o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en un estado deshidratado mediante congelación (liofilizado) que requiere solo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyectables, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos, y comprimidos estériles.

30 Se debe entender que además del ingrediente mencionado en particular anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica en función del tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para su administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

35 La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de varios factores incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la afección precisa que requiera tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación, y la ruta de administración, y estará por último a la discreción del medico o veterinario a cargo. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento del crecimiento neoplástico, por ejemplo carcinoma de colon o mama, se encontrará generalmente en el intervalo de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día y más usualmente en el intervalo de 1 a 10 mg/kg de peso corporal por día.

45 Los compuestos de la presente invención y sales terapéuticamente aceptables de los mismos, se pueden emplear solos o combinados con otros agentes terapéuticos para el tratamiento de las afecciones anteriormente mencionadas. En particular, en la terapia anti-cancerosa, se contempla la combinación con otros agentes quimioterapéuticos, hormonales, o anticuerpos así como la combinación con terapia quirúrgica y radioterapia. Las terapias combinadas de acuerdo con la presente invención comprenden de este modo la administración de al menos un compuesto de fórmula (I), o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos otro método de tratamiento del cáncer distinto. Preferiblemente, las terapias combinadas de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un agente farmacéuticamente activo distinto, preferiblemente un agente antineoplásico. El compuesto o los compuestos de fórmula (I) y el otro o los otros agentes farmacéuticamente activos se pueden administrar juntos o separadamente y cuando se administran separadamente esto puede ocurrir simultáneamente o sucesivamente en cualquier orden. Las cantidades del compuesto o los compuestos de fórmula (I) y el otro o los otros agentes farmacéuticamente activos y las sincronizaciones de administración relativas se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

60 Los compuestos de fórmula (I), o las sales terapéuticamente aceptables de los mismos, y al menos una terapia para el tratamiento del cáncer adicional se pueden emplear combinados concomitantemente o sucesivamente en cualquier combinación terapéuticamente apropiada con otras terapias anticancerosas. En una realización, la otra terapia anticancerosa es al menos una terapia quimioterapéutica adicional incluyendo la administración de al menos un agente antineoplásico. La administración combinada de un compuesto de fórmula (I), o las sales terapéuticamente aceptables del mismo, con otros agentes antineoplásicos puede ser combinada de acuerdo con la invención por medio de la administración concomitante en (1) una composición farmacéutica unitaria incluyendo ambos compuestos o (2) composiciones farmacéuticas separadas que incluyen cada una uno de los compuestos.

Alternativamente, la combinación se puede administrar separadamente de manera sucesiva donde un agente antineoplásico se administra en primer lugar y el otro en segundo lugar o viceversa. Tal administración sucesiva puede ser próxima en el tiempo o remota en el tiempo.

5 Los agentes antineoplásicos puede inducir efectos antineoplásicos de una manera específica del ciclo celular, es decir, son específicos de la fase y actúan en una fase específica del ciclo celular, o se unen al ADN y actúan de una manera no específica del ciclo celular, es decir, no son específicos del ciclo celular y operan por medio de otros mecanismos.

10 Los agentes antineoplásicos útiles combinados con los compuestos y las sales de fórmula (I) incluyen los siguientes:

- (1) agentes antineoplásicos específicos del ciclo celular incluyendo, pero no limitados a, diterpenoides tales como paclitaxel y su análogo docetaxel; alcaloides de vinca tales como vinblastina, vincristina, vindesina, y vinorelbina; epipodofilotoxinas tales como etopósido y tenipósido; fluoropirimidinas tales como 5-fluorouracilo y fluorodesoxiuridina; antimetabolitos tales como alopurinol, fludarabina, metotrexato, cladribina, citarabina, mercaptopurina, y tioguanina; y camptotecinas tales como 9-aminocamptotecina, irinotecano, topotecano, CPT-11, y las diversas formas ópticas de 7-(-4-metilpiperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20-camptotecina;
- 15 (2) agentes quimioterapéuticos citotóxicos incluyendo, pero no limitados a, agentes alquilantes tales como melfalán, clorambucil, ciclofosfamida, mecloretamina, hexametilmelamina, busulfan, carmustina, lomustina, y dacarbazina; antibióticos anti-tumorales tales como doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina, y mitramicina; y complejos de coordinación de platino tales como cisplatino, carboplatino, y oxaliplatino; y
- 20 (3) otros agentes quimioterapéuticos incluyendo, pero no limitados a, anti-estrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, y yodoxifeno; progestérogénos tales como acetato de megastrol; inhibidores de aromatasas tales como anastrozol, letrozol, vorazol, y exemestano; antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, y acetato de ciproterona; agonistas y antagonistas de LHRH tales como acetato de goserelina y leuprolida, inhibidores de la testosterona 5 α -dihidroreductasa tales como finasterida; inhibidores de metaloproteinasas tales como marimastat; antiprogéstagenos; inhibidores de la función del receptor del activador de plasminógeno de tipo uroquinasa; inhibidores de la función del factor de crecimiento tales como inhibidores de las funciones del factor de crecimiento de hepatocitos; erb-B2, erb-B4, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR y TIE-2 (distintos de los inhibidores de VEGFR y TIE-2 descritos en la presente invención)); y otros inhibidores de tirosinas quinasas tales como los inhibidores de CDK2 y los inhibidores de CDK4.
- 25
- 30
- 35

Determinación de la Actividad Biológica

La potencia in vitro de los compuestos para inhibir estas proteína quinasas se puede determinar mediante los procedimientos detallados más abajo.

40 La potencia de los compuestos se puede determinar mediante la cantidad de inhibición de la fosforilación de un sustrato exógeno (p. ej., péptido sintético (Z. Songyang et al., Nature. 373:536-539) por un compuesto de ensayo con respecto a un control.

Todos los reactivos son de grado reactivo o mejor y se encuentran disponibles en el mercado a menos que se indique de otro modo.

KDR, Producción de Tirosina Quinasa Utilizando un Sistema de Baculovirus:

45 Se generó la secuencia codificante para el dominio intracelular de KDR humano (aa 789-1354) por medio de la PCR utilizando ADN aislados de células HUVEC. También se introdujo una secuencia de poli-His6 en el extremo N de esta proteína. Este fragmento se clonó en el vector de transfección pVL1393 en el sitio Xba 1 y Not 1. Se generó baculovirus (BV) recombinante por medio de co-transfección utilizando el reactivo de Transfección BaculoGold (PharMingen). El BV recombinante se purificó en placa y se verificó por medio de análisis Western. Para la producción de proteína, se hicieron crecer células SF-9 en medio SF-900-II a 2×10^6 /ml, y se infectaron a 0,5 unidades formadoras de placa por célula (MOI). Las células se cosecharon a las 48 horas de la infección.

50

Purificación de KDR

55 Se lisaron las células SF-9 que expresaban (His)₆KDR (aa 789-1354) añadiendo 50 ml de tampón de lisis Triton X-100 (Tris 20 mM, pH 8,0, NaCl 137 mM, glicerol al 10%, Triton X-100 al 1%, PMSF 1 mM, aprotinina 10 μ g/ml, 1 μ g/ml de leupeptina) al sedimento celular a partir de 1 L de cultivo celular. El producto lisado se centrifugó a 19.000 rpm en un rotor Sorval SS-34 durante 30 min a 4°C. El producto lisado celular se aplicó a una columna de 5 ml de seferosa quelante NiCl₂, equilibrada con HEPES 50 mM, pH 7,5, NaCl 0,3 M. Se hizo eluir KDR utilizando el mismo tampón que contenía imidazol 0,25 M. Las fracciones de la columna se analizaron utilizando SDS-PAGE y un

análisis ELISA (más abajo) que mide la actividad quinasa. El KDR purificado se cambió a HEPES 25 mM, pH 7,5, NaCl 25 mM, tampón DTT 5 mM y se almacenó a -80°C.

Los compuestos de la presente invención inhibieron KDR a una CI_{50e} entre alrededor de 0,001 μ M y alrededor de 1,0 μ M.

5 **Producción y Purificación de Quinasa Tie-2 Humana**

La secuencia codificante para el dominio intra-celular de Tie-2 humana (aa 775-1124) se generó por medio de PCR utilizando los ADNc aislados de placenta humana como molde. Se introdujo una secuencia de poli-His₆ en el extremo N y este constructo se clonó en el vector de transfección pVL 1939 en el sitio Xba 1 y Not 1. Se generó BV recombinante por medio de co-transfección utilizando el reactivo BaculoGold Transfection (PharMingen). El BV recombinante se purificó en placa y se verificó por medio de análisis Western. Para la producción de proteína, se hicieron crecer células de insecto SF-9 en medio SF-900-II a 2×10^6 /ml, y se infectaron a una MOI de 0,5. La purificación de esta quinasa etiquetada con His utilizada en el escrutinio fue análoga a la descrita para KDR.

15 **Producción y Purificación de Tirosina Quinasa Flt-1 Humana**

Se utilizó el vector de expresión baculoviral pVL1393 (PharMingen, Los Angeles, CA). Se colocó una secuencia de nucleótidos que codificaba poli-His₆ 5' con respecto a la región codificante del dominio quinasa intracelular completo de Flt-1 humana (aminoácidos 786-1338). Se generó por medio de PCR la secuencia de nucleótidos que codificaba el dominio quinasa utilizando genotecas de ADNc aisladas de células HUVEC. Los residuos de histidina permitieron la purificación por afinidad de la proteína de una manera análoga a la de KDR y ZAP70. Se infectaron células de insecto SF-9 a una multiplicidad de 0,5 y se cosecharon a las 48 horas de la infección.

20 **Fuente de Tirosina Quinasa de EGFR**

Se adquirió EGFR de Sigma (500 unidades/50 μ L) y se adquirió el ligando de BGF de Oncogene Research Products/Calbiochem.

Fuente de Proteína Quinasa

25 Lck, Fyn, Src, Blk, Csk, y Lyn, y las formas truncadas de las mismas se pueden obtener comercialmente (p. ej., de Upstate Biotechnology Inc. y Santa Cruz Biotechnology Inc.) o se pueden purificar a partir de fuentes naturales o recombinantes utilizando métodos convencionales.

Análisis de Quinasa in vitro por Fluorescencia de Resolución Temporal Homogénea (HTRF)

30 (Mathis, G., HTRF(R) Technology. J Biomol Screen, 1999.4(6): págs. 309-314; Alfred J. Kolb, Paul V. Kaplita, David J. Hayes, Young-Whan Park, Christine Pernel, John S. Major y Gérard Mathis, Drug Discovery Today, 1998,3,333-342):

Por ejemplo, se mezcló la enzima purificada con sustrato N-biotinilado 4 μ M (p. ej., poli(Glu₄Tyr)) y diferentes concentraciones de inhibidor en tampón de reacción (HEPES 50 mM, pH 7,1, MgCl₂ 10 mM, MnCl₂ 2 mM, BSA al 0,1% y DTT 1 mM, volumen final 40 μ L). La reacción de la quinasa se inició mediante la adición de ATP (conc. final 1 mM) en una placa de 96 pocillos de color negro (Packard). Después de una incubación de 30-60 minutos a la temperatura ambiente, la reacción se sofocó mediante la adición de una solución de EDTA tamponada (concentraciones finales aproximadas: EDTA 30 mM, BSA al 0,1%, Triton X-100 al 0,1% y KF 0,24 M) y se añadió a la mezcla de reacción una solución de agentes de revelado (para dar 0,084 ng/pocillo de estreptavidina-XL-665 (Cis-Bio) y 6,5 ng/pocillo de mAb anti-fosfotirosina PT66-K marcado con Kriptato de Europio). La reacción sofocada se dejó reposar a la temperatura ambiente durante 3 horas y después se leyó en un detector de fluorescencia de resolución temporal (Discovery, Packard) a 620 nm y 665 nm simultáneamente. Se utilizó un láser de nitrógeno de 337 nm para la excitación. La razón entre la señal de 620 nm y 665 nm se utilizó en el cálculo de la CI_{50} .

Los detalles más específicos para las diferentes enzimas se incluyen más abajo en la Tabla 1:

Tabla 1

ANÁLISIS HTRF									
Enzima	Contracción	PM (kD)	Conc. Reacción Enz. (ng/pocillo)	Tampón de Análisis	Sustrato	Conc. Péptido Sustrato (μ M)	Conc. ATP (mM)	Conc. DMSO (%)	Tiempo de Reacción (min)
Lck(Truncado)	62-509	52	2,11	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
Src(UBJ)	NA	60	0,15 U/pocillo	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
Lyn	Etiqueta His6	52	0,5	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
Fyn (Dominio Catalítico)	Etiqueta His6 (257-534)	34	0,15	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
Csk	Etiqueta His6	50	0,33	MOPSO	bio-PGT	4	1	5	10
Lck (Dominio Catalítico)	Etiqueta His6	35	1	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
Blk (Dominio Catalítico)	Etiqueta His6	60	0,15	MOPSO	Péptido bio-LCK	4	1	5	60
KDR	His6-KDR 789-1354	63	7	HEPES	Péptido bio-FGFR	4	1	5	60
Tie2	Etiqueta His6	40	12,6	HEPES	bio-PGT	10 ng/pocillo	1	5	10
oKIT	Fusión GST	70	4*	HEPES	Péptido bio-FGFR	0,5*	1	5	60
Flt1	Etiqueta His6	65		HEPES	Péptido bio-FGFR	4	1	5	60
CSF-Ir	M-His(6)-CSF-1R Q547-C972	50	10	HEPES	Péptido bio-Lck	4	1	5	60

Sustratos

5 Péptido bio-FGFR significa péptido biotina-(ácido 6-aminohexanoico)-FGFR donde el péptido FGFR es el descrito por Z. Songyang et. al., en Nature, 373:536-539 (1995) excepto que la alaninamida se añadió al extremo carboxi.

Péptido bio-LCK significa péptido biotina-(ácido 6-aminohexanoico)-Lck donde el péptido Lck es el descrito por Z. Songyang et. al., en Nature, 373:536-539 (1995) excepto que la glicina-alanina se añadió al extremo amino, la valina fue sustituida por alanina en la posición +2, y la alanina se truncó.

Un pocillo contiene un total de 40 µL de reactivos.

- 5 Los compuestos de la presente invención tienen utilidad terapéutica en el tratamiento de enfermedades que implican tirosina quinasas tanto identificadas, incluyendo las que no se mencionan en la presente memoria, como las que todavía no se han identificado que son inhibidas por los compuestos de la presente invención.

Análisis Celular de PTK Receptoras

- 10 Se utilizó el siguiente análisis celular para determinar el nivel de actividad y de efecto de los diferentes compuestos de la presente invención sobre KDR/VEGFR2. Se pueden diseñar análisis de PTK receptoras similares empleando un estímulo de ligando específico junto con las mismas líneas para otras tirosina quinasas utilizando mecanismos bien conocidos en la técnica.

Análisis Celular de KDR

- 15 Se midió la capacidad de los compuestos para inhibir la fosforilación de receptores KDR en células mediante ELISA siguiendo el protocolo esbozado más abajo.

Protocolo Día 1

Se añadieron células 3T3 transfectadas con KDR (ratón embrionario) a placas para el cultivo de tejidos de 96 pocillos a 20.000 células/pocillo.

- 20 Las placas se recubrieron y se colocaron en una incubadora humidificada a 37°C con 5% de CO₂, para permitir que las células se adhirieran.

Se preparó la solución de recubrimiento: se añadieron 500 µl/vial de PBS a 2 viales de anticuerpo anti-KDR, después 1 ml de anticuerpo anti-KDR solubilizado en 29,0 ml de tampón bicarbonato.

Se añadió solución de recubrimiento a los pocillos a 150 µl/pocillo (cantidad final de anti-KDR = 1 µg/pocillo) y se colocó a 4°C durante la noche.

Protocolo Día 2

Se colocó solución de bloqueo (2,1 g de leche en polvo + 42 ml de PBS = 5% de leche en PBS) en una placa con agitación durante 30 min.

- 30 Las placas de análisis se lavaron dos veces con PBST, y se añadieron 200 µl/pocillo de solución de bloqueo a todos los pocillos. Las placas de análisis se recubrieron con selladores para placas y se colocaron en una cámara para microplacas a 37°C hasta inmediatamente antes de la transferencia del producto lisado celular.

Las soluciones de partida de compuesto se descongelaron o se prepararon en DMSO en forma de soluciones de partida 5 mM.

El medio de dilución (MD, DMSO al 1% en DMEM) y los compuestos se diluyeron mediante incrementos semi-log para el análisis de concentración-respuesta.

- 35 El medio acondicionado se descartó de las placas para el cultivo de tejidos, y las placas se secaron con material absorbente.

- 40 Se añadieron la solución patrón en MD, las diluciones de compuesto en MD, o el MD (para los pocillos de control elevado, control negativo, y de referencia) a las placas para el cultivo de tejidos, 25 µl/pocillo. Cada par de placas para el cultivo de tejidos se preparó con los mismos compuestos, soluciones y diseños; y se combinarán más adelante; Las placas para el cultivo de tejidos se recubrieron y se colocaron en la cámara para microplacas a 37°C durante 20 min.

- 45 Se preparó la solución de VEGF: 110 µl de solución de partida de VEGF + 10,89 ml de MD = 100 ng/ml de VEGF. Se añadió la solución de VEGF o MD (para los pocillos de referencia) a las placas para el cultivo de tejidos, 25 µl/pocillo. Las placas para el cultivo de tejidos se recubrieron y se colocaron en la cámara para microplacas a 37°C durante 10 min. Se preparó tampón RIPA (240 µl de solución de partida de NaVO₃ + 240 µl de solución de partida de PIC + 24 µl de solución de partida de NaF + 23,496 ml de base para RIPA) y se añadieron a las placas para el cultivo de tejidos, 50 µl/pocillo. Las placas para el cultivo de tejidos se recubrieron y se colocaron sobre un aparato de sacudimiento para placas Labline durante 10 min (velocidad alrededor de 5).

ES 2 386 027 T3

Las placas de análisis se lavaron dos veces con PBST.

Los productos lisados celulares de los pocillos coincidentes se combinaron a = 200 µl/pocillo, y se pipetearon arriba y abajo para mezclarlos.

- 5 Los productos lisados celulares se transfirieron a las placas de análisis utilizando los mismos diseños, 1,70 µl/pocillo. Las placas de análisis se recuperaron con selladores de placa y se colocaron sobre un aparato de sacudimiento para placas Labline durante 2 hr (velocidad alrededor de 5).

Las placas de análisis se lavaron 5 veces con PBST.

Se preparó la solución de anticuerpo con biotina (6 µl de solución de partida de anticuerpo con biotina + 32 ml de PBST = dilución 2000x) y se añadió a las placas de análisis, 150 µl/pocillo.

- 10 Se recubrieron las placas de análisis con selladores para placas y se colocaron sobre un aparato de sacudimiento para placas Labline durante 90 min. Las placas de análisis se lavaron 5 veces con PBST.

Se preparó una solución de Estreptavidina-HRP (16 µl de solución de partida de estreptavidina-HRP + 32 ml de PBST = dilución 2000x) y se añadió a las placas de análisis, 150 µl/pocillo.

- 15 Las placas de análisis se recubrieron con selladores para placas y se colocaron sobre un aparato de sacudimiento para placas Labline durante 60 min.

Las placas de análisis se lavaron 5 veces con PBST.

Se añadió sustrato a las placas de análisis, 100 µl/pocillo.

- 20 A medida que las placas de análisis se desarrollaban, se controlaron cada una de las placas en un Molecular Devices Spectramax ajustado a 650 nm, hasta que la señal de los pocillos de control elevado tuvo una DO de aproximadamente 0,6 y la señal de los pocillos de control negativos tuvo una DO de alrededor de 0,1-0,15.

Se añadió solución de partida a las placas de análisis, 100 µl/pocillo.

Las placas se leyeron en un Molecular Devices Spectramax ajustado a 450 nm.

- 25 Los datos se calcularon por medio de Assay Explorer, utilizando los mismos pocillos de control elevado de la placa como 0% y los pocillos de control de referencia como una inhibición del 100% de la fosforilación de KDR. Los valores de la CI_{50} se calcularon mediante análisis de regresión no lineal de los datos de concentración-respuesta.

Reactivos y Materiales

- 30 Placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos: cultivo de tejidos de fondo plano tratada, Costar 3599

PBS: 1X solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4, sin cloruro de calcio, sin cloruro de magnesio; Invitrogen/Gibco 10010 lote 1187052+ 1201198

- 35 Anticuerpo anti-KDR: anticuerpo anti-VEGF R2 (KDR) humano, R&D Systems AF357 lote CUE02405A, 5 mg por vial a 2,630 mg/ml; dividido en alícuotas de 38 µl; almacenado a -30°C

Tampón bicarbonato: 1 paquete de tampón carbonato-bicarbonato BupH (Pierce 28382 lote DH58189B) + 500 ml de nH₂O, almacenado a temperatura ambiente

- 40 Placa de análisis de 96 pocillos: placa de EIA/RIA Easywash, High Binding; Costar 3369

Leche en polvo: Biorad 170-6404 lote 175026B

- 45 PBST : 1 ml Tween + 1L PBS = Tween al 1% en PBS, almacenado a temperatura ambiente

Tween: Tween 20, Sigma P-1379 lote 033K0711

- 50 DMEM 11965: Medio de Eagle modificado por Dulbecco, alto contenido de glucosa, con L-glutamina, con hidrocloreuro de piroxidina, sin piruvato de sodio; Invitrogen/Gibco 11965 lote 1212380

Provisión de partida de VEGF: 1 ml de PBS/BSA (PBS + BSA al 0,1%, preparado por Keith Glaser y almacenada a temperatura ambiente, números de catálogo y de lote desconocidos) añadido a 1 vial VEGF (VEGF humano

ES 2 386 027 T3

recombinante, R&D Systems 293-VE lote II16311, 10 µg por vial) = 10 µg/ml; dividido en alícuotas de 55 µl; almacenado a -80°C

5 Provisión de partida de NaVO₃: 12,19 mg/ml de metavanadato de sodio (Sigma S-6383 lote 092K0853, FW 121,9) en nH₂O = 100 mM, calentado a 37°C para la solubilización, a continuación dividido en alícuotas de 120 µl; almacenado a -20°C; concentración final 1 mM en tampón RIPA

10 Provisión de partida de PIC: cóctel inhibidor de proteasa (Sigma P-8340 lote 044K41O6); dividido en alícuotas de 120 µl; almacenado a 20°C; dilución final 100x en tampón RIPA

Provisión de partida de NaF: 41,99 mg/ml de fluoruro de sodio (Sigma S-7920 lote 070K0120, FW 41,99) en nH₂O = 1 M, dividido en alícuotas de 12 µl; almacenado a -20°C; concentración final 1 mM en tampón RIPA

15 base RIPA: preparada en nH₂O hasta un volumen final de 500 ml con los componentes de más abajo, pH ajustado a 7,4; almacenada a 4°C 3,94 g de hidrocloreto de Trizma (Sigma T-3253 lote 108H5406, FW 157,6) = 5,0 ml de Igepal CA-630 50 mM (Sigma I-3021 lote 122K0040) = 1,25 g de ácido desoxicólico al 1%, sal de sodio (Sigma D-6750 lote 44F-0504, FW 414,5) = 4,383 g de NaCl al 0,25% (Fisher S271-3 lote 005493, FW 58A4) = 226,1 mg de EDTA 150 mM (Sigma E-5391 lote 33H0478, FW 452,2) = 1 mM

20 Provisión de partida de anticuerpo con biotina: IgG2bk monoclonal de ratón, conjugado con biotina, anti-fosfotirosina, clon 4G10; Upstate Biotechnology 16-103 lote 23957

25 Provisión de partida de estreptavidina-HRP: producto conjugado de peroxidasa de rábano picante, estreptavidina; Upstate Biotechnology 18-152 lote 26275, botella abierta 7/1/04

Sustrato: Sustrato K-blue potenciado (TMB), Neogen 308117 lote 040405

30 Solución de parada: 14,5 ml de ácido fosfórico (Sigma P-5811 lote 051K3451, FW 98,00, 17,245 M) + 235,5 ml de nH₂O = 1 M; almacenada a temperatura ambiente

Modelo de Edema Uterino In vivo

35 Este análisis mide la capacidad de los compuestos para inhibir el aumento agudo del peso uterino en ratones que se produce en las primeras horas de la estimulación con estrógenos. Se sabe que este comienzo temprano del aumento de peso uterino es debido al edema ocasionado por el aumento de permeabilidad de la vasculatura uterina. Cullinan-Bove y Koss (Endocrinology (1993), 133:829-837) demostraron una íntima relación temporal del edema uterino estimulado por estrógenos con el aumento de expresión del ARNm de VEGF en el útero. Estos resultados han sido confirmados mediante el uso de un anticuerpo monoclonal neutralizador contra VEGF que redujo significativamente el aumento agudo de peso uterino después de la estimulación con estrógenos (documento WO 97/42187). Por lo tanto, este sistema puede servir como modelo para la inhibición in vivo de la señalización de VEGF y la hiperpermeabilidad y el edema asociados.

45 Materiales: Todas las hormonas se pueden adquirir de Sigma (St. Louis, MO) o CalBiochem (La Jolla, CA) en forma de polvos liofilizados y preparar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los componentes vehículo (DMSO, Cremaphor EL) se pueden adquirir de Sigma (St. Louis, MO). Los ratones (Balb/c, 8-12 semanas de edad) se pueden adquirir de Taconic (Germantown, NY) y albergar en una instalación para animales sin patógenos de acuerdo con Pautas del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales.

Método:

50 Día 1: A ratones Balb/c se les administró una inyección intraperitoneal (i.p.) de 12,5 unidades de gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG).

Día 3: Los ratones recibieron 15 unidades de gonadotropina coriónica humana (hCG) i.p.

55 Día 4: Los ratones se eligieron al azar y se dividieron en grupos de 5-10. Los compuestos de ensayo se administraron mediante las rutas i.p., i.v. o p.o. dependiendo de su solubilidad y vehículo a dosis que oscilaban de 1 a 100 mg/kg. El grupo de control con vehículo recibió únicamente vehículo y dos grupos se dejaron sin tratar.

60 Treinta minutos después, a los grupos experimental, con vehículo y 1 de los grupos no tratados se les administró una inyección i.p. de 17-estradiol (500 mg/kg). Al cabo de 2-3 horas, los animales se sacrifican mediante inhalación de CO₂. Después de una incisión en la línea media, cada útero se aisló y se retiró cortando inmediatamente por debajo del cérvix y en las uniones del útero y los oviductos. Se retiraron la grasa y el tejido conectivo con cuidado de no alterar la integridad del útero antes del pesaje (peso húmedo). Los úteros se secaron para eliminar el líquido presionando entre dos láminas de papel de filtro con una botella de vidrio de un litro llena de agua. Los úteros se

pesaron después del secado (peso seco). La diferencia entre los pesos húmedo y seco se toma como el contenido de líquido del útero. El contenido medio de líquido de los grupos tratados se compara con los grupos no tratado o tratado con vehículo. La significación se determina por medio de la prueba de Student. El grupo de control no estimulado se utiliza para controlar la respuesta al estradiol.

5 Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento de las afecciones mediadas por proteína quinasas, tales como enfermedades proliferativas benignas y neoplásicas y trastornos del sistema inmunitario. Tales enfermedades incluyen enfermedades autoinmunes, tales como artritis reumatoide, tiroiditis, diabetes de tipo 1, esclerosis múltiple, sarcoidosis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, miastenia grave y lupus eritematoso generalizado; psoriasis, el rechazo del trasplante de órganos (p. ej., rechazo de riñón, enfermedad de injerto contra anfitrión), enfermedades proliferativas benignas y neoplásicas, cánceres humanos tales como pulmón, mama, estómago, vejiga, colon, páncreas, ovario, próstata y recto y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfoma), glioblastoma, hemangioma infantil, y enfermedades que implican vascularización inapropiada (por ejemplo retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, neovascularización coroidal debida a la degeneración macular relacionada con la edad, y hemangiomas infantiles en seres humanos). Tales inhibidores pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos que implican edema mediado por VEGF, ascitis, efusiones, y exudados, incluyendo por ejemplo edema macular, edema cerebral, lesión pulmonar aguda y síndrome de dificultad respiratoria del adulto (ARDS). Además, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de la hipertensión pulmonar, particularmente en pacientes con enfermedad tromboembólica (J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2001, 122 (1), 65-73).

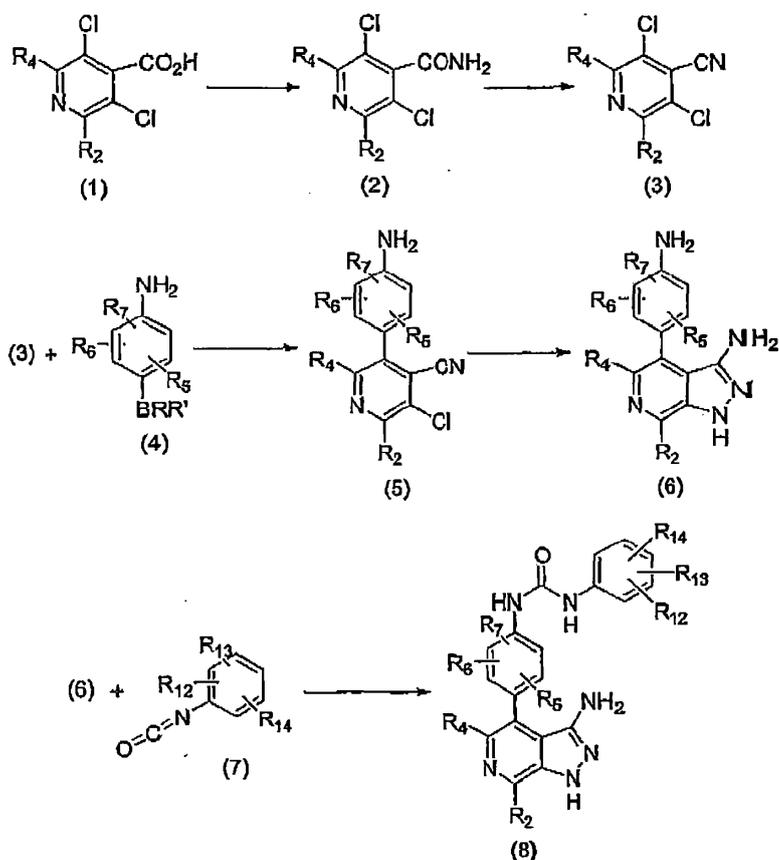
Se pretende que esta invención abarque los compuestos que tienen la fórmula (I) cuando se preparan mediante procedimientos sintéticos o metabólicos. La preparación de los compuestos de la invención por medio de procedimientos metabólicos incluyen los que se producen en el organismo humano o animal (in vivo) o procedimientos que ocurren in vitro.

Métodos Sintéticos

30 Las abreviaturas que han sido utilizadas en las descripciones del esquema y los ejemplos que siguen son: nBu para n-butilo; dppf para difenilfosfinferroceno; DMF para N,N-dimetilformamida; DME para 1,2-dimetoxietano; HPLC para cromatografía líquida de alta presión; NMP para N-metilpirrolidinona; DMSO para dimetilsulfóxido; min para minutos; y THF para tetrahidrofurano.

Los compuestos y procedimientos de la presente invención se entenderán mejor en relación con los siguientes esquemas sintéticos que ilustran los métodos mediante los cuales se pueden preparar los compuestos de la invención. Las sustancias de partida se pueden obtener de fuentes comerciales o se pueden preparar por medio de métodos de la literatura bien establecidos conocidos por los expertos normales en la técnica.

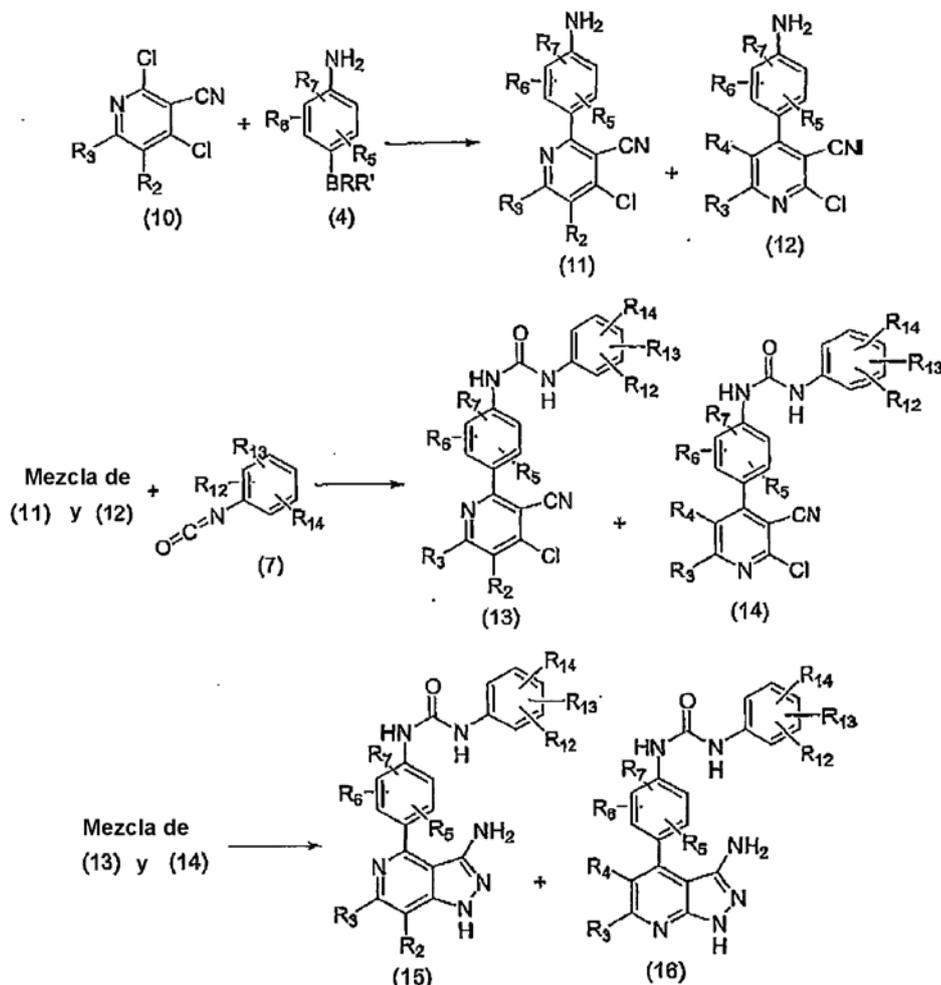
Esquema 1



- 5 Los compuestos de fórmula (8), donde R_2 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_{12} , R_{13} , y R_{14} se definen como en la fórmula (1), se pueden preparar como se describe en el Esquema 1. Los ácidos de piridina de fórmula (1), adquiridos en el mercado o preparados utilizando metodología bien conocida por los expertos en la técnica, se pueden tratar con un agente activador tal como cloruro de oxalilo y amoníaco para proporcionar las amidas de fórmula (2). Las amidas de fórmula (2) se pueden tratar con un agente deshidratante tal como oxiclورو de fósforo para proporcionar los cianuros de fórmula (3). Los cianuros de fórmula general (3) se pueden tratar con los ácidos borónicos o boronatos de fórmula (4), (R y R' pueden ser alcoxi o hidroxilo), un catalizador de paladio, y una base para proporcionar los compuestos de fórmula (5). Los compuestos de fórmula (5) se pueden tratar con hidrazina para proporcionar los compuestos de fórmula (6). Los compuestos de fórmula (6) se pueden tratar con los isocianatos de fórmula (7) para proporcionar las ureas de fórmula (8).

15

Esquema 2



5 Los compuestos de fórmula (15) y los compuestos de fórmula (16), donde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_{12} , R_{13} , y R_{14} se definen como en la fórmula (I), se pueden preparar como se describe en el Esquema 2. Los compuestos de fórmula (10), adquiridos o preparados utilizando metodología bien conocida por los expertos en la técnica, se pueden tratar con los ácidos borónicos o boronatos de fórmula (4) (R y R' pueden ser alcoxi o hidroxilo), un catalizador de paladio, y una base para proporcionar los compuestos de fórmula (11) y los compuestos de fórmula (12). La mezcla de los compuestos de fórmula (11) y fórmula (12) se puede separar o tratar con los isocianatos de fórmula (7) para proporcionar una mezcla de ureas de fórmula (13) y fórmula (14). La mezcla de ureas se puede separar o tratar con hidrazina para proporcionar los compuestos de fórmula (15) y fórmula (16) que se pueden separar utilizando mecanismos bien conocidos por los expertos en la técnica.

15 Los compuestos de la presente invención fueron nombrados con ACD/ChemSketch versión 5.0 (desarrollado por Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canadá) o se les asignaron nombres que parecían congruentes con la nomenclatura ACD.

Ejemplo 1

20 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

Ejemplo 1A

3.5-Dicloroisonicotinamida

25 Una solución de ácido 3,5-dicloro-isonicotínico (9,54 g, 49,6 mmol, asequible comercialmente de TCI) en benceno (100 mL) se trató con cloruro de oxalilo (8,7 mL), una cantidad catalítica de DMF (5 gotas), se agitó durante la noche a temperatura ambiente, y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en diglima (10 mL) y se añadió

gota a gota a NH_2OH al 35% en agua (150 mL). La mezcla se filtró para proporcionar 8,2 g del compuesto del título en forma de un polvo de color blanco. EM ((DCI (+)) m/e 190,9 (M+H)⁺.

Ejemplo 1B

5

3,5-Dicloro-isonicotinonitrilo

El producto del Ejemplo 1A (2,1g, 11 mmol) en POCl_3 (25 mL) se agitó a reflujo durante la noche, se dejó que se enfriara a temperatura ambiente, se vertió sobre hielo, y se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se secó (Na_2SO_4), se filtró, y el producto filtrado se concentró a presión reducida para producir 1,2 g del compuesto del título. RMN ^1H (300 MHz, DMSO-D_6) δ ppm 8,96 (s, 2H).

Ejemplo 1C

3-(4-Amino-fenil)-5-cloro-isonicotinonitrilo

El producto del Ejemplo 1B (3 g, 17,3 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenilamina (4,18 g, 19 mmol), $\text{PdCl}_2\text{dppf}\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (300 mg), y Na_2CO_3 (4,5g) se combinaron en DMF (25 mL) y agua (10 mL). La mezcla se desgasificó con nitrógeno y se calentó a 85°C durante la noche. Se dejó que la mezcla se enfriara a temperatura ambiente y se repartió entre agua y acetato de etilo. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró, y el producto filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó a través de cromatografía de gel de sílice eluyendo con hexanos:acetato de etilo (1:1) para proporcionar 1,4 g del compuesto del título. RMN ^1H (300 MHz, DMSO-D_6) δ ppm 5,67 (s, 2H) 6,70 (d, J = 8,48 Hz, 2H) 7,40 (d, J = 8,82 Hz, 2H) 8,76 (s, 1H) 8,79 (s, 1H).

Ejemplo 1D

4-(4-Amino-fenil)-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-ilamina

El producto del Ejemplo 1C (1,4 g) en hidrato de hidrazina (10 mL) se calentó a 110°C durante 3 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se repartió entre agua y acetato de etilo. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró, y el producto filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó a través de cromatografía de gel de sílice eluyendo con metanol al 8% en CH_2Cl_2 para proporcionar 0,5 g del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo. EM (ESI(+)) m/e 225 (M+H)⁺.

Ejemplo 1E

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'(2-fluoro-5-metilfenil)urea

El producto del Ejemplo 1D (50 mg, 0,22 mmol) en DMF (1mL) se trató con 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno (0,03 mL, 0,22 mmol) y se agitó durante 16 horas. El producto bruto se purificó directamente a través de HPLC preparativa en una columna preparativa Agilent Zorbax Stablebond C-18 (tamaño de partícula de 7 micras) utilizando un gradiente de disolvente de acetonitrilo de 30% a 100% en TFA acuoso al 0,1% a una velocidad de flujo de 15 mL/minuto. El producto se purificó adicionalmente a través de cromatografía de gel de sílice eluyendo con metanol/ CH_2Cl_2 al 5% para proporcionar 4 mg del compuesto del título. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN ^1H (300 MHz, DMSO-D_6) δ ppm 2,28 (s, 3H) 4,61 (s, 2H) 6,77 - 6,85 (m, 1H) 7,12 (dd, J = 11,53, 8,14 Hz, 1H) 7,49 (d, J = 8,81 Hz, 2H) 7,63 (d, J = 8,48 Hz 2 H) 7,94 (s, 1H) 8,01 (dd, J = 8,31, 1,86 Hz, 1H) 8,55 (d, J = 2,71 Hz, 1H) 8,73 (s, 1H) 9,24 (s, 1H) 12,26 (s, 1H).

Ejemplo 2

50

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando 1-isocianato-3-metil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (APCI(+)) m/z 359 (M+H)⁺; RMN ^1H (300 MHz, DMSO-D_6) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 4,61 (s, 2 H) 6,80 (d, J = 7,12 Hz, 1 H) 7,17 (t, J = 7,80 Hz, 1 H) 7,26 (d, J = 7,80 Hz, 1 H) 7,32 (s, 1 H) 7,47 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,93 (s, 1 H) 8,66 (s, 1 H) 8,73 (s, 1 H) 8,84 (s, 1 H) 12,26 (s, 1 H).

Ejemplo 3

60

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando 1-cloro-3-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 379 (M+H)⁺; RMN ^1H (300

MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,02-7,06 (m, 1 H) 7,29-7,33 (m, 2 H) 7,55 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,69 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,75 (s, 1 H) 8,10 (s, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 9,12 (s, 2 H).

Ejemplo 4

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando 1-fluoro-2-isocianato-4-trifluorometil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno. EM (ESI(+))m/e 431 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,39-7,45 (m, 1 H) 7,51 (d, J = 10,85 Hz, 1 H) 7,56 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,70 (m, 2 H) 8,08 (s, 1 H) 8,64 (dd, J = 7,29, 2,20 Hz, 1 H) 9,00 (d, J=2,71 Hz, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 9,44 (s, 1 H)

Ejemplo 5

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando 1-fluoro-4-isocianato-2-metil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,22 (d, J = 1,70 Hz, 3 H) 4,61 (s, 2 H) 7,06 (t, J = 9,15 Hz, 1 H) 7,24 - 7,32 (m, 1 H) 7,38 (dd, J = 6,78, 2,37 Hz, 1 H) 7,47 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,62 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,93 (s, 1 H) 8,68 (s, 1 H) 8,73 (s, 1 H) 8,85 (s, 1 H) 12,26 (s, 1 H).

Ejemplo 6

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

Ejemplo 6A

4-(4-Amino-fenil-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-ilamina

El producto del Ejemplo 1C (150 mg, 0,65 mmol) y metilhidrazina (0,35 mL) en n-butanol (2 mL) se calentó en un vial sellado a 190°C durante 30 minutos agitando en un horno de microondas Smith Synthesizer (a 300 W). Se dejó que la mezcla de reacción se enfriara a temperatura ambiente y se repartió entre agua y acetato de etilo. El extracto orgánico se secó (Na₂SO₄), se filtró, y el producto filtrado se concentró para proporcionar 0,08 g del compuesto del título. EM (ESI(+)) m/e 240 (M+H)⁺.

Ejemplo 6B

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A en lugar de el producto del Ejemplo 1D, EM (ESI(+))Q1MS m/z 391 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,28 (s, 3 H) 4,02 (s, 3 H) 6,80-6,85 (m, 1 H) 7,12 (dd, J = 11,36, 8,31 Hz, 1 H) 7,53 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,67 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,99 (dd, J = 8,31, 2,20 Hz, 1 H) 8,10 (s, 1 H) 8,57 (d, J = 2,37 Hz, 1 H) 9,20 (s, 1 H) 9,3 (s, 1H).

Ejemplo 7

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-isocianato-3-metil-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 373 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,29 (s, 3H) 4,02 (s, 3H) 6,81 (d, J = 7,12 Hz, 1H) 7,17 (t, J = 7,80 Hz, 1H) 7,26 (d, J = 8,14 Hz, 1H) 7,32 (s, 1H) 7,52 (d, J = 8,82 Hz, 2H) 7,68 (d, J = 8,82 Hz, 2H) 8,10 (s, 1H) 8,71 (s, 1H) 8,95 (s, 1H) 9,20 (s, 1H).

Ejemplo 8

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-cloro-3-isocianato-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 393 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,92 (s, 3 H) 4,67 (s, 2 H) 7,01 - 7,06

(m, 1 H) 7,29 - 7,34(m, 2 H) 7,48 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,73 (s, 1 H) 7,95 (s, 1 H) 8,87 (s, 1 H) 8,97 (s ancho, 2 H).

Ejemplo 9

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-fluorofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-fluoro-3-isocianato-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,92 (s, 3 H) 4,67 (s, 2 H) 6,80 (td, J = 8,31, 2,37 Hz, 1 H) 7,15 (dd, J = 8,31, 1,19 Hz, 1 H) 7,32 (c, 1 H) 7,48 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,53 (t, J = 2,37 Hz, 1 H) 7,63 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,95 (s, 1 H) 8,87 (a, 1 H) 8,95 (s, 1 H) 8,99 (s, 1 H)

Ejemplo 10

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 2-cloro-1-fluoro-4-isocianato-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D, y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 411 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,92 (s, 3 H) 4,61- 4,72 (m, 2 H) 7,32 - 7,37 (m, 2 H) 7,47 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,79 - 7,84 (m, 1 H) 7,94 (s, 1 H) 8,87 (s, 1 H) 8,95 (s, 1 H) 8,96 (s, 1 H).

Ejemplo 11

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-fluoro-4-isocianato-4-metil-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 391 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,22 (d, J = 1,70 Hz, 3H) 4,02 (s, 3H) 7,06 (t, J = 9,15 Hz, 1H) 7,24 - 7,33 (m, 1H) 7,35 - 7,43 (m, 1H) 7,52 (d, J = 8,81 Hz, 2H) 7,67 (d, J = 8,81 Hz, 2H) 8,10 (s, 1H) 8,77 (s, 1H) 8,99 (s, 1H) 9,21 (s, 1H).

Ejemplo 12

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-(trifluorometil)fenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-isocianato-3-trifluorometil-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 427 (M+H)⁺; RMN H¹ (500 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,92 (s, 3 H) 4,66 (s, 2 H) 7,33 (d, J = 7,49 Hz, 1 H) 7,48 (d, J = 8,73 Hz, 2 H) 7,53 (t, J = 7,95 Hz, 1 H) 7,61 (d, J = 9,05 Hz, 1 H) 7,65 (d, J = 8,73 Hz, 2 H) 7,95 (s, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,87 (s, 1 H) 8,98 (s, 1H) 9,10 (s, 1 H).

Ejemplo 13

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1E utilizando el producto del Ejemplo 6A y 1-fluoro-2-isocianato-4-trifluorometil-benceno en lugar de el producto del Ejemplo 1D y 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno. EM (ESI(+)) m/e 445 (M+H)⁺; ¹HNMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,92 (s, 3 H) 4-66 (s, 2 H) 7,36 - 7,45 (m, 1 H) 7,46 - 7,55 (m, 1 H) 7,50 (d, J = 8,73 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,42 Hz, 2 H) 7,95 (s, 1 H) 8,64 (dd, J = 7,33, 2,03 Hz, 1 H) 8,87 (s, 1 H) 8,95 (d, J = 2,81 Hz, 1 H) 9,35 (s, 1 H).

Ejemplo 14

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

Ejemplo 14A

Ácido 2,4-dicloro-nicotínico

Se trató diisopropilamido de litio (2M en heptano/THF/benceno, 16,7 mL) gota a gota con 2,4-dicloropiridina (5 g, 33,8 mmol) a -78°C en THF (25 mL). La mezcla se agitó a -78°C durante 2 horas, se trató con hielo seco en exceso, se dejó templando a temperatura ambiente, y se repartió entre éter dietílico y un volumen igual de KOH acuoso al

10%. El extracto alcalino se neutralizó con HCl al 10% y se extrajo con éter dietílico. El extracto etérico se secó (Na_2SO_4), se filtró, y el producto filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 9,5 g (rendimiento 70%) del compuesto del título. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,32 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 5,42 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 5,42 Hz, 1H).

5

Ejemplo 14B

2,4-Dicloro-nicotinonitrilo

10 El compuesto del título se preparó utilizando los procedimientos descritos en el Ejemplo 1A y el Ejemplo 1B utilizando el producto del Ejemplo 14A en lugar de ácido 3,5-dicloroisocotínico. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,93 (d, J = 5,76 Hz, 1H), 8,67 (d, J = 5,76 Hz, 1H).

Ejemplo 14C

15

4-(4-aminofenil)-2-cloronicotinonitrilo y 2-(4-aminofenil)-4-cloronicotinonitrilo

20 Los compuestos del título se prepararon en forma de una mezcla inseparable utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1C utilizando el producto del Ejemplo 14B en lugar de el producto del Ejemplo 1B. EM (ESI(+)) m/e 229,9 (M+H)⁺.

Ejemplo 14D

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)-urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

25

30 La mezcla del Ejemplo 14C (52 mg, 0,23 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se trató gota a gota con 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno (0,032 mL) at 0°C. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se filtró y La torta del filtro se secó para proporcionar 58 mg de una mezcla 2 a 1 de los compuestos del título. EM (ESI(+)) m/e 376,9 (M+H)⁺.

Ejemplo 14E

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

35

40 La mezcla de Ejemplo 14D (250 mg) en nBuOH (5 mL) se trató con monohidrato de hidrazina (2,5 mL), se calentó a 110°C durante 4h, se dejó que se enfriara a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó a través de HPLC en una columna preparativa Agilent Zorbax Stablebond C-18 (tamaño de partícula de 7 micras) utilizando un gradiente de disolvente de 20% a 100% acetonitrilo en TFA ac. al 0,1% a una velocidad de flujo de 15 ml/min a lo largo de 50 min, para producir 40 mg del compuesto del título. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 6,79 - 6,90 (m, 1 H) 7,14 (dd, J = 11,53, 8,48 Hz, 1 H) 7,62 - 7,69 (m, 1 H) 7,72 - 7,84 (m, 4 H) 7,98 (dd, J = 7,63, 2,20 Hz, 1 H) 8,22 (s, 1 H) 8,67 (d, J = 2,71 Hz, 1 H) 9,53 (s, 1 H).

Ejemplo 15

45

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea

50 La mezcla de Ejemplo 14D (250 mg) en nBuOH (5 mL) se trató con monohidrato de hidrazina (2,5 mL), se calentó a 110°C durante 4h, se dejó que se enfriara a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó a través de HPLC en una columna preparativa Agilent Zorbax Stablebond C-18 (tamaño de partícula de 7 micras) utilizando un gradiente de disolvente de 20% a 100% acetonitrilo en TFA ac. al 0,1% a una velocidad de flujo de 15 ml/min a lo largo de 50 min, para producir 25 mg del compuesto del título. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,28 (s, 3 H) 6,78 - 6,86 (m, 1 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,12 (dd, J = 11,36, 8,31 Hz, 1 H) 7,56 (d, J = 8,82 Hz, 2H) 7,66 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,00 (dd, J = 7,63, 2,20 Hz, 1 H) 8,39 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,56 (d, J = 2,71 Hz, 1 H) 9,30 (s, 1 H).

55

Ejemplo 16

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea

60

Ejemplo 16A

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)urea

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-fluoro-2-isocianato-4-trifluorometil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno.

Ejemplo 16B

5

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 16A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 431 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,39 - 7,30 (m, 1 H) 7,54 (t, 1 H) 7,67 (d, J = 6,78 Hz, 1 H) 7,73 - 7,87 (m, 4 H) 8,21 (d, J = 7,12 Hz, 1 H) 8,62 (dd, J = 7,29, 2,20 Hz, 1 H) 9,10 (d, J = 2,71 Hz, 1 H) 9,67 (s, 1 H).

10

Ejemplo 17

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 16A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+))m/e 431 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,35 - 7,46 (m, 1 H) 7,51 (d, J = 10,17 Hz, 1 H) 7,57 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,67 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 8,38 (d, J = 5,09 Hz, 1 H) 8,64 (dd, J = 7,29, 2,20 Hz, 1 H) 8,98 (d, J = 3,05 Hz, 1 H) 9,41 (s, 1 H).

20

Ejemplo 18

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-o]piridin-4-il)fenil]-N'-3-(trifluorometil)fenil]urea

Ejemplo 18A

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea

30

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-isocianato-3-trifluorometil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno.

Ejemplo 18B

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 18A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 413 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,35 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 7,55 (t, J = 7,80 Hz, 1 H) 7,59 - 7,68 (m, 2 H) 7,71 - 7,85 (m, J = 8,93, 8,93, 8,93 Hz, 4 H) 8,06 (s, 1 H) 8,20 (s, 1 H) 9,38 (s, 1 H) 9,44 (s, 1 H).

40

Ejemplo 19

45

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 18A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 413 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,33 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 7,50 - 7,57 (m, 1 H) 7,56 (d, J = 8,47 Hz, 2 H) 7,61 (d, J = 8,48 Hz, 1 H) 7,67 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 8,39 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,07 (s, 1 H) 9,16 (s, 1 H).

50

Ejemplo 20

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea

Ejemplo 20A

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea y compuesto con N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]N'-4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea

60

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-fluoro-4-isocianato-2-trifluorometil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno.

Ejemplo 20B**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea.**

5 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 20A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 431 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,48 (t, J = 9,83 Hz, 1 H) 7,57 - 7,72 (m, J = 16,28 Hz, 2 H) 7,72 - 7,84 (m, 4 H) 8,04 (dd, J = 6,27, 2,54 Hz, 1 H) 8,17 - 8,27 (m, 1 H) 9,27 (s, 1 H) 9,35 (s, 1 H).

10 **Ejemplo 21****N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea**

15 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 20A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 431 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,46 (t, J = 9,83 Hz, 1 H) 7,56 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,67 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,67-7,71 (m, 1 H) 8,03 (dd, J = 6,44, 2,71 Hz, 1 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,11 (s, 1 H) 9,17 (s, 1 H).

20 **Ejemplo 22****N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea****Ejemplo 22A**

25 **N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea**

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 3,5-difluoro-1-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

30

Ejemplo 22B**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea**

35 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 22A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 381 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,84 (tt, J = 9,41, 2,37, 2,20 Hz, 1 H) 7,24 (dd, J = 10,00, 2,20 Hz, 2 H) 7,59 - 7,67 (m, 1 H) 7,71 - 7,83 (m, 4 H) 8,22 (s, 1 H) 9,38 (s, 1 H) 9,44 (s, 1 H).

40 **Ejemplo 23****N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea**

45 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 22A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 381 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,81 (tt, J = 9,32, 2,37 Hz, 1 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,17 - 7,25 (m, 2 H) 7,56 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,66 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 9,21 (s, 1 H).

50 **Ejemplo 24****N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea****Ejemplo 24A**

55 **N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-3,5-dimetilfenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea**

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 3,5-dimetil-1-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

60

Ejemplo 24B**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea**

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 24A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (APCI(+)) m/e 373 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,25 (s, 6 H) 6,66 (s, 1 H) 7,11 (s, 2 H) 7,57 - 7,68 (m, 1 H) 7,70 - 7,82 (m, 4 H) 8,19 - 8,27 (m, 1 H) 8,72 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H).

5

Ejemplo 25**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea**

10 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 24A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 373 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,24 (s, 6 H) 6,64 (s, 1 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,10 (s, 2 H) 7,54 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 8,39 (d, J = 5,09 Hz, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 8,90 (s, 1 H).

Ejemplo 26**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)-fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea****Ejemplo 26A.**

20 **N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea** y **N-[4-cloro-3-cianopiridin-2-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea**

25 Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-isocianato-3-metoxibenceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

Ejemplo 26B**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea**

30 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 26A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 375 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,75 (s, 3 H) 6,60 (dd, J = 8,14, 2,37 Hz, 1 H) 6,99 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 7,17 - 7,29 (m, 2H) 7,66 (d, J = 6,78 Hz, 1H) 7,71 - 7,88 (m, 4 H) 8,20 (d, J = 6,78 Hz, 1 H) 8,99 (s, 1 H) 9,28 (s, 1 H).

35

Ejemplo 27**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea**

40 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 26A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 375 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,74 (s, 3 H) 6,57 (dd, J = 8,14, 1,70 Hz, 1 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 6,96 (dd, J = 7,12, 2,03 Hz, 1 H) 7,15 - 7,21 (m, 1 H) 7,22 (d, J = 2,37 Hz, 1 H) 7,54 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 8,38 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,77 (s, 1 H) 8,91 (s, 1 H).

45

Ejemplo 28**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]pirimidin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea****Ejemplo 28A****N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea** y **N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea**

55 Los compuestos del título se prepararon utilizando los procedimientos descritos en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-fluoro-2-cloro-4-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno.

Ejemplo 28B**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]pirimidin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea**

60 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 28A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 397 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz,

DMSO-D₆) δ ppm 7,33 - 7,39 (m, 2 H) 7,65 (d, J = 6,44 Hz, 1 H) 7,72 - 7,81 (m, 4 H) 7,82 - 7,86 (m, 1 H) 8,21 (s, 1 H) 9,17 (s, 1 H) 9,36 (s, 1 H).

Ejemplo 29

5

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]pirimidin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14B excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 28A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (BSI(+)) m/e 397 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,93 (d, T=4,75 Hz, 1 H) 7,32 - 7,38 (m, 2 H) 7,55 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,66 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,81 - 7,85 (m, 1 H) 8,39 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,99 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H).

Ejemplo 30

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Ejemplo 30A

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-fluoro-4-isocianato-2-metil-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metil-benceno.

Ejemplo 30B

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 30A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,23 (d, J = 1,70 Hz, 3 H) 7,08 (t, J = 9,15 Hz, 1 H) 7,24 - 7,34 (m, 1 H) 7,39 (dd, J = 6,95, 2,54 Hz, 1 H) 7,65 (d, J = 7,12 Hz, 1 H) 7,68 - 7,83 (m, 4 H) 8,19 (s, 1 H) 8,89 (s, 1 H) 9,25 (s, 1 H).

Ejemplo 31

35

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 30A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 377 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,22 (d, J = 1,70 Hz, 3 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,06 (t, J = 9,15 Hz, 1 H) 7,24 - 7,32 (m, 1 H) 7,38 (dd, J = 6,61, 2,54 Hz, 1 H) 7,54 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,38 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 8,91 (s, 1 H).

Ejemplo 32

45

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Ejemplo 32A

N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-metil-3-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

55

Ejemplo 32B

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 32A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D, EM (ESI(+)) m/e 359 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 6,83 (d, J = 7,12 Hz, 1 H) 7,18 (t, J = 7,63 Hz, 1 H) 7,27 (d, J = 8,14 Hz, 1 H) 7,33 (s, 1 H) 7,60 - 7,84 (m, 5 H) 8,20 (s, 1 H) 8,85 (s, 1 H) 9,22 (s, 1 H).

60

Ejemplo 33 A-851301,2**N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea**5 **Ejemplo 33A****N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea**

10 Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-cloro-3-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

Ejemplo 33B15 **N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea**

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 33A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+)) m/e 359 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 7,03 - 7,09 (m, 1 H) 7,30 - 7,35 (m, 2 H) 7,64 - 7,82 (m, 7 H) 8,21 (s, 1 H) 9,24 (s, 1 H) 9,42 (s, 1 H).

Ejemplo 3425 **N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea****Ejemplo 34A****N-[4-(2-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea y N-[4-(4-cloro-3-cianopiridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea**

30 Los compuestos del título se prepararon utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14D excepto que se utilizó 1-fluoro-3-isocianato-benceno en lugar de 1-fluoro-2-isocianato-4-metilbenceno.

Ejemplo 34B35 **N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea**

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 14E excepto que se utilizó la mezcla del Ejemplo 3 4A en lugar de la mezcla del Ejemplo 14D. EM (ESI(+))m/e 363 (M+H)⁺; RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 6,82 (td, J = 8,31, 2,03 Hz, 1 H) 7,17 (d, J = 8,14 Hz, 1 H) 7,26 - 7,43 (m, 1 H) 7,47 - 7,57 (m, J = 12,04, 2,20, 2,03 Hz, 1 H) 7,59 - 7,67 (m, 1 H) 7,70 - 7,83 (m, 4 H) 8,22 (s, 1 H) 9,17 (s, 1 H) 9,31 (s, 1 H).

Ejemplo 3545 **N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea****Ejemplo 35A**50 **2-[1-(4-nitrofenil)etiliden]malononitrilo**

Una mezcla de 1-(4-nitro-fenil)etanona (10 g, 60,5 mmol), malononitrilo (4 g, 60,5 mmol), NH₄OAc (4,66 g, 121 mmol) en benceno (100 mL) y ácido acético (6,4 mL) se sometió a reflujo durante la noche utilizando un aparato Dean Stark para recoger el agua. Se dejó que la reacción se enfriara a temperatura ambiente, se repartió entre agua y EtOAc (3x), los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se concentraron y se purificaron a través de cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con hexanos:EtOAc 3 a 1 para producir 3,71 g (29%) del compuesto del título. R_f=0,22 (hexanos:EtOAc 4:1).

Ejemplo 35B60 **2-Cloro-4-(4-nitro-fenil)-nicotinonitrilo**

Una solución del Ejemplo 35A (95,83 g, 27,4 mmol) en CH₂Cl₂ (100 mL) se trató con dimetoximetil-dimetil-amina (7,3 mL, 54,7 mmol), se agitó durante la noche a temperatura ambiente y a continuación se concentró. El residuo se disolvió en ácido acético (200 mL) después se trató con gas HCl (añadido mediante burbujeo durante aprox. 4

minutos). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4h dando como resultado una suspensión espesa que se vertió sobre agua helada. El precipitado formado se recogió a través de filtración, a continuación se suspendió en NaHCO₃ ac. sat. y se extrajo con EtOAc (3x130 mL). La mayoría del sólido permaneció sin disolver y se recogió mediante filtración, a continuación se lavó sucesivamente con agua y EtOAc para producir 4,00 g del Ejemplo 35B. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se concentraron y se purificaron a través de cromatografía de gel de sílice eluyendo con EtOAc-hexanos al 40% para producir 0,42 g adicionales del compuesto del título. EM (BSI(+)) m/e 260 (M+H)⁺.

Ejemplo 35C

4-(4-Amino-fenil)-2-cloro-nicotinonitrilo

Una mezcla del Ejemplo 35B (2,0 g), polvo de hierro (2,15 g) y NH₄Cl (0,4 g) en EtOH (80 mL), agua (20 mL) y THF (80 mL) se sometió a reflujo durante la noche, a continuación se filtró a través de un lecho de celite mientras todavía estaba caliente. La torta del filtro se lavó con EtOH y los productos filtrados combinados se concentraron. El residuo se trituró en agua para producir 1,46 g del ejemplo 35C. R_f=0,41 (1:1 hexanos: EtOAc).

Ejemplo 35D

1-[4-(2-cloro-3-ciano-piridin-4-il)fenil]-3-m-tolil-urea

Una mezcla del Ejemplo 35C (0,1 g, 0,43 mmol), 1-isocianato-3-metilbenceno (0,06 mL, 0,43 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) y THF (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche, a continuación se trató con 0,02 mL adicionales de 1-isocianato-3-metilbenceno, se agitó durante 5 más horas a temperatura ambiente, a continuación durante 2,5 h a 50°C. El precipitado resultante se recogió mediante filtración para producir 0,1 g del compuesto del título. EM (ESI(+)) m/e 363 (M+H)⁺.

Ejemplo 35E

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Una mezcla del Ejemplo 35D (0,08 g, 0,22 mmol) e hidrato de hidrazina (0,11 mL, 2,2 mmol) en n-butanol (5 mL) se calentó a 110°C durante 2h, a continuación se concentró. El residuo se purificó a través de HPLC en una columna preparativa Agilent Zorbax Stablebond C-18 (tamaño de partícula, 7 micras) utilizando un gradiente de disolvente de acetonitrilo de 20% a 100% en TFA acuoso al 0,1% a una velocidad de flujo de 15 ml/min a lo largo de 50 min, para producir el compuesto del título. RMN H¹ (500 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 6,81 (d, J = 7,32 Hz, 1 H) 6,93 (d, J = 4,58 Hz, 1 H) 7,17 (t, J = 7,63 Hz, 1 H) 7,26 (d, J = 7,63 Hz, 1 H) 7,33 (s, 1 H) 7,54 (d, J = 8,24 Hz, 2 H) 7,66 (d, J = 7,93 Hz, 2 H) 8,38 (d, J = 4,27 Hz, 1 H) 8,80 (s, 1 H) 9,04 (s, 1 H); EM (BSI(+)) m/e 359 (M+H)⁺.

Ejemplo 36

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando los procedimientos descritos en los Ejemplos 35D y 35E utilizando 1-isocianato-4-metilbenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno en Ejemplo 35D. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,25 (s, 3 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,10 (d, J = 8,14 Hz, 2 H) 7,36 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,54 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,40 (d, J = 5,09 Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 8,94 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 359 (M+H)⁺.

Ejemplo 37

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando los procedimientos descritos en los Ejemplos 35D y 35E utilizando 1-isocianato-2-metilbenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno en Ejemplo 35, RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,27 (s, 3 H) 6,89 - 7,03 (m, 2 H) 7,11 - 7,24 (m, 2 H) 7,56 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,67 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,83 (d, J = 12 Hz, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,41 (d, J = 5,09 Hz, 1 H) 9,29 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 359 (M+H)⁺.

Ejemplo 38

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando los procedimientos descritos en los Ejemplos 35D y 35E utilizando 1-cloro-3-isocianatobenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno en Ejemplo 35D. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆)

δ ppm 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,00 - 7,07 (m, 1 H) 7,28 - 7,34 (m, 2 H) 7,55 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 6,78 Hz, 2 H) 7,74 (s, 1 H) 8,38 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,00 (s, 1 H) 9,03 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 379 (M+H)⁺.

Ejemplo 39

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

Una solución de Ejemplo 40 (87 mg, 0,36 mmol) y 1-isocianato-3-metilbenceno (0,046 mL, 0,36 mmol) en THF (3 mL), CH₂Cl₂ (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5h. El precipitado resultante se separó mediante filtración y se purificó a través de HPLC en una columna preparativa Agilent Zorbax Stablebond C-18 (tamaño de partícula de 7 micras) utilizando un gradiente de disolvente de acetonitrilo de 20% a 100% en TFA acuoso al 0,1 % a una velocidad de flujo de 15 ml/min a lo largo de 50 min, para producir 62 mg del compuesto del título. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 3,83 (s, 3 H) 6,81 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,17 (t, J = 80 Hz, 1 H) 7,26 (d, J = 8,48 Hz, 1 H) 7,32 (s, 1 H) 7,53 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,67 (s, 1 H) 8,90 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 373 (M+H)⁺.

Ejemplo 40

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-fluoro-3-isocianatobenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,83 (s, 3 H) 6,80 (td, J = 8,56, 2,20 Hz, 1 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,15 (d, J = 9,49 Hz, 1 H) 7,25 - 7,39 (m, 1 H) 7,46 - 7,58 (m, 3 H) 7,65 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,00 (s, 2 H), EM (ESI(+)) m/e 377(M+H)⁺.

Ejemplo 41 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-isocianato-3-trifluorometilbenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,84 (s, 3 H) 6,94 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,33 (d, J = 7,46 Hz, 1 H) 7,47 - 7,65 (m, 4 H) 7,68 (d, J = 6,78 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 8,42 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 9,10 (s, 1 H) 9,18 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 427 (M+H)⁺.

Ejemplo 42

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-fluoro-2-isocianato-4-trifluorometilbenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,83 (s, 3 H) 4,70 (s, 2 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,36 - 7,46 (m, 1 H) 7,47 - 7,61 (m, 3 H) 7,67 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 8,41 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,64 (dd, J = 7,46, 2,37 Hz, 1 H) 8,99 (s, 1 H) 9,42 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 445 (M+H)⁺.

Ejemplo 43

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-fluoro-2-metil-4-isocianatobenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,22 (d, J = 2,03 Hz, 3 H) 3,83 (s, 3 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,06 (t, J = 9,15 Hz, 1 H) 7,24 - 7,32 (m, 1 H) 7,38 (dd, J = 6,78, 2,37 Hz, 1 H) 7,53 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,74 (s, 1 H) 8,95 (s, 1 H). EM (ESI(+)) m/e 391 (M+H)⁺.

Ejemplo 44

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-bromofenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-bromo-3-isocianatobenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno, RMN H¹ (300 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 3,83 (s, 3 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 7,17 (d, J = 7,80 Hz, 1 H) 7,26 (t, J = 7,97 Hz, 1 H) 7,34 (d, J = 8,14 Hz, 1 H) 7,54 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,82 Hz, 2 H) 7,84 - 7,90 (m, 1 H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1 H) 8,97 (s, 1 H) 9,01 (s, 1 H), EM (ESI(+)) m/e 439 (M+H)⁺.

Ejemplo 45

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea

El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-isocianato-3,5-dimetilbenceno en lugar o 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H^1 (300 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 2,24 (s, 6 H) 3,84 (s, 3 H) 6,63 (s, 1H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 2 H) 7,10 (s, 2 H) 7,53 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,65 (d, J = 8,81 Hz, 5 H) 8,41 (d, J = 4,75 Hz, 1H) 8,66 (s, 1 H) 8,96 (s, 1H). EM (ESI(+)) m/e 387 (M+H)⁺.

5

Ejemplo 46**N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,4-diclorofenil)urea**

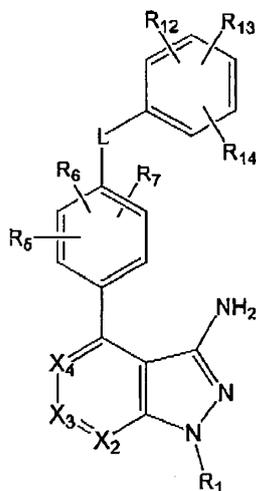
10 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1,2-dicloro-4-isocianatobenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H^1 (300 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 3,83 (s, 3 H) 6,92 (d, J = 4,75 Hz, 1H) 7,36 (dd, J = 8,81, 2,37 Hz, 1 H) 7,50 - 7,58 (m, 3 H) 7,65 (d, J = 8,81 Hz, 2 H) 7,90 (d, J = 2,37 Hz, 1H) 8,40 (d, J = 4,75 Hz, 1H) 9,07 (s, 1H) 9,09 (s, 3 H). EM (ESI(+)) m/e 427 (M+H)⁺.

15 **Ejemplo 47****N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea**

20 El compuesto del título se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 41 utilizando 1-fluoro-4-isocianato-2-trifluorometilbenceno en lugar de 1-isocianato-3-metilbenceno. RMN H^1 (300 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 3,83 (s, 3 H) 6,93 (d, J = 4,75 Hz, 1H) 7,45 (t, J = 9,83 Hz, 1H) 7,55 (d, J = 8,48 Hz, 2 H) 7,63 7,70 (m, 3 H) 8,03 (dd, J = 6,78, 2,71 Hz, 1H) 8,41 (d, J = 4,75 Hz, 1H) 9,08 (s, 1H) 9,14 (s, 1H). EM (ESI(+)) m/o 445 (M+H)⁺.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1)



(I),

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde

X₂ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₂;

10 X₃ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₃;

X₄ se selecciona del grupo que consiste en N y CR₄;

siempre que solo uno de X₂, X₃, y X₄ es N;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno o metilo;

R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, y R₇ son hidrógeno;

15 L es -NHC(O)NH-;

R₁₂, R₁₃, y R₁₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alcoxi, alquilo, haloalquilo, y halógeno;

con la condición de que

20 el término "alquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 10 átomos de carbono,

el término "alcoxi" según se utiliza en la presente memoria, significa un grupo alquilo, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un átomo de oxígeno,

el término "haloalquilo" según se utiliza en la presente memoria, significa al menos un halógeno, según se define en la presente memoria, anclado al radical molecular de origen a través de un grupo alquilo, según se define en la

25 presente memoria,

el término "halo" o "halógeno" según se utiliza en la presente memoria, significa -Cl, -Br, -I o -F.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en

30 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4,y1)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea;

35 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-fluorofenil)urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea;

40 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea;

N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea;

N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea;

45 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea;

- N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N-[3-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea;
 5 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-difluorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea;
 10 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metoxifenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-cloro-4-fluorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea;
 15 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[4,3-c]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-fluorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea;
 20 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(2-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-clorofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-fluorofenil)urea;
 25 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[3-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(4-fluoro-3-metilfenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3-bromofenil)urea;
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,5-dimetilfenil)urea;
 30 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-(3,4-diclorofenil)urea; y
 N-[4-(3-amino-1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)fenil]-N'-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]urea.

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, combinado con un portador terapéuticamente aceptable.

35 4. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer.