

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 406 737**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 473/00 (2006.01)
C07D 491/14 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2006 E 06776357 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2013 EP 1912998**

54 Título: **Derivados de pirazol con actividad de tirosina quinasa**

30 Prioridad:

09.08.2005 DE 102005037499

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

07.06.2013

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)
FRANKFURTER STRASSE 250
64293 DARMSTADT, DE**

72 Inventor/es:

**HOELZEMANN, GÜNTER;
CRASSIER, HELENE y
RAUTENBERG, WILFRIED**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 406 737 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazol con actividad de tirosina quinasa

Antecedentes de la invención

5 El objeto fundamental de la invención consiste en encontrar nuevos compuestos con propiedades valiosas, principalmente aquellos que pueden usarse para producir medicamentos.

La presente invención hace referencia a compuestos y al uso de compuestos en los cuales la inhibición, la regulación y/o la modulación de la transducción de señales de quinasa, principalmente las tirosina quinasa y/o las serina/treonina quinasa, desempeñan un papel, además a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, así como al uso de los compuestos para el tratamiento de enfermedades inducidas por las quinasa.

10 En particular, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I que inhiben, regulan y/o modulan la transducción de señales de Met-quinasa, a composiciones que contienen estos compuestos, así como a métodos para su uso para tratar enfermedades y dolencias condicionadas por tirosina quinasa, tales como la angiogénesis, cáncer, generación, crecimiento y propagación de tumores, aterosclerosis, oftalmopatías, como degeneración de mácula inducida por la edad, neovascularización coroidal y retinopatía diabética, enfermedades inflamatorias, artritis, trombosis, fibrosis, glomerulonefritis, neurodegeneración, psoriasis, restenosis, cicatrización, rechazo de trasplantes, afecciones metabólicas y del sistema inmunitario, incluso enfermedades autoinmunitarias, cirrosis, diabetes y afecciones de los vasos sanguíneos, también inestabilidad y permeabilidad, y similares en mamíferos

20 Las tirosina quinasa son una clase de enzimas con al menos 400 miembros que catalizan la transferencia del fosfato ubicado en el extremo del adenosintrifosfato (γ -fosfato) a residuos de tirosina en sustratos de proteína. Se supone que en las diferentes funciones celulares, a las tirosina-quinasa corresponde un papel esencial en la transducción de señales, a través de la fosforilación de sustratos. A pesar de que los mecanismos exactos de la transducción de señales aún no son claros, se ha mostrado que las tirosina-quinasa representan factores importantes en la proliferación celular, la carcinogénesis y la diferenciación celular. Las tirosina-quinasa pueden dividirse en tirosina-quinasa de tipo receptor y tirosina-quinasa citosólicas. Las tirosina-quinasa de tipo receptor presentan una parte extracelular, una fracción de transmembrana y una parte intracelular, mientras que las tirosina quinasa citosólicas se presentan exclusivamente de modo intracelular. (Véase Reviews de Schlessinger y Ullrich, Neuron 9, 383-391 (1992) y 1-20 (1992)).

30 Las tirosina-quinasa de tipo receptor se componen de un gran número de receptores de transmembrana con diferente actividad biológica. De esta manera se identificaron aproximadamente 20 subfamilias diferentes de tirosina-quinasa de tipo receptor. Una subfamilia de tirosina-quinasa que lleva la denominación de subfamilia HER, se compone de EGFR, HER2, HER3 y HER4. Entre los ligandos de esta subfamilia de tipo receptor se cuentan: el factor de crecimiento epitelial, TGF- α , anfiregulina, HBEGF, betacelulina y heregulina. La subfamilia de insulina, a la cual pertenecen INS-R, IGF-IR y IR-R, representa otra subfamilia de estas tirosina-quinasa del tipo receptor. La subfamilia de PDGF incluye el receptor PDGF- α y β , CSFIR, c-kit y FLK-II. Además, existe la familia de FLK que se compone del receptor de dominio de inserto de quinasa (KDR), la quinasa - 1 de hígado fetal (FLK-1), la quinasa - 4 de hígado fetal (FLK-4) y la tirosina-quinasa - 1 de fms (flt-1). Las familias de PDGF y FLK se discuten usualmente en conjunto debido a las similitudes existentes entre ambos grupos. Para una discusión exacta de las tirosina-quinasa de tipo receptor véase el trabajo de Plowman et al., DN & P 7(6):334-339, 1994, la cual se incorpora por la presente a modo de referencia.

40 A las RTKs (tirosina-quinasa de tipo receptor) también pertenecen TIE2 y sus ligandos angiopoyetina 1 y 2. Entretanto, se hallan cada vez más homólogos de estos ligandos cuya acción aún no ha sido comprobada claramente. Como homólogo de TIE2 se conoce TIE1. Las RTKs TIE se expresan selectivamente en células endoteliales y encuentran su misión en procesos de la angiogénesis y maduración de los vasos sanguíneos. De este modo pueden ser un objeto valioso principalmente en el caso de enfermedades del sistema vascular y en el caso de patologías en las que se utilizan vasos o incluso se reforman. Aparte de la prevención de neoformación vascular y maduración, la estimulación de neoformación vascular también puede ser un objeto valioso para los ingredientes activos. Se hace referencia a los trabajos recopilatorios sobre angiogénesis, desarrollo de tumores y transducción de señal de quinasa por G. Breier Placenta (2000) 21, Suppl A, Trofoblast Res 14, página 11- páginas 15 y siguientes; F. Bussolino et al. TIBS 22, 251 -256 (1997) G. Bergers & L.E. Benjamin Nature Rev Cancer 3, 401-410 (2003) P. Blume-Jensen & Hunter Nature 411, 355-365 (2001) M. Ramsauer & P. D'Amore J. Clin. Invest. 110, 1615-1617 (2002) S. Tsigkos et al. Expert Opin. Investig. Drugs 12, 933-941 (2003).

50 Ejemplos de inhibidores de quinasa que ya se han ensayado en la terapia anticancerosa pueden tomarse de L.K. Shawyer et al. Cancer Cell 1, 117-123(2002) y D. Fabbro & C. Garcia-Echeverria Current Opin. Drug Discovery & Development 5, 701-712 (2002).

- Las tirosina-quinazas citosólicas también se componen de un gran número de subfamilias, entre ellas Src, Frk, Btk, Csk, Abl, Zap70, Fes/Fps, Fak, Jak, Ack, y LIMK. Cada una de estas subfamilias se subdivide más en diversos receptores. De esta manera, por ejemplo, la subfamilia Src representa una de las subfamilias más grandes. Ella incluye Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Blk, Hck, Fgr y Yrk. La subfamilia de enzimas Src se ha ligado a la oncogénesis. Para una discusión más exacta de las tirosina-quinazas citosólicas, véase el trabajo de Bolen *Oncogene*, 8:2025-2031 (1993), el cual se incorpora por medio de la presente a modo de referencia.
- Tanto las tirosina-quinazas de tipo receptor como también las tirosina-quinazas citosólicas participan en vías de transducción de señales celulares que conducen a diversas condiciones patológicas, entre ellas cáncer, psoriasis y reacciones hiper-inmunitarias.
- Se ha propuesto que las diferentes tirosina-quinazas de tipo receptor, así como los factores de crecimiento que la enlazan, desempeñan un papel en la angiogénesis, a pesar de que algunas podrían promover indirectamente la angiogénesis (Mustonen y Alitalo, *J. Cell Biol.* 129:895-898, 1995). Una de estas tirosina-quinazas del tipo receptor es la quinasa de hígado fetal 1, también llamada FLK-1. El análogo humano de la FLK-1 es el receptor que contiene dominios de inserto de quinasa KDR, el cual también es conocido bajo la denominación receptor 2 de factor de crecimiento de células endoteliales vasculares o VEGFR-2, puesto que enlaza VEGF con alta afinidad. Finalmente, la versión de ratón de este receptor también se ha llamado NYK (Oelrichs et al., *Oncogene* 8(1):11-15, 1993). VEGF y KDR representan un par ligando – receptor que desempeña un papel esencial en la proliferación de las células endoteliales vasculares y en la formación y germinación de los vasos sanguíneos, que se designan como vasculogénesis o angiogénesis.
- La angiogénesis se distingue por una actividad excesivamente fuerte del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). El VEGF se compone propiamente de una familia de ligandos (Klagsburn y D'Amore, *Cytokine & Growth Factor Reviews* 7:259-270, 1996). El VEGF enlaza el receptor de tirosina-quinasa KDR de trans-membrana con alta afinidad y la fms-tirosina-quinasa – 1 relacionada, también conocida bajo la denominación Flt-1 o receptor de factor de crecimiento de células endoteliales vasculares 1 (VEGFR-1). De los experimentos de cultivo celular y de knockout de genes se desprende que cada receptor aporta a diferentes aspectos de la angiogénesis. El KDR proporciona la función mitogénica del VEGF, mientras que Flt-1 parece modular funciones no mitogénicas asociadas con la adhesión celular. Por lo tanto, una inhibición del KDR modula el nivel de la actividad de VEGF mitogénica. Efectivamente se ha mostrado que el crecimiento de tumor está influenciado por el efecto antiangiogénico de los antagonistas de receptor de VEGF (Kim et al., *Nature* 362, páginas 841-844, 1993).
- Han sido identificados tres receptores de PTK (proteína-tirosina-quinasa) para VEGFR: VEGFR-1 (Flt-1); VEGFR-2 (Flk-1 o KDR) y VEGFR-3 (Flt-4). De particular interés es VEGFR-2.
- Por lo tanto, los tumores sólidos pueden tratarse con inhibidores de tirosina-quinasa ya que estos tumores dependen de la angiogénesis para la formación de los vasos sanguíneos requeridos para apoyar su crecimiento. Estos tumores sólidos incluyen la leucemia monocítica, carcinoma de cerebro, urogenital, del sistema linfático, del estómago, de la laringe, y de pulmón, incluido adenocarcinoma de pulmón y carcinoma de pulmón de células pequeñas. Otros ejemplos incluyen carcinomas en los que se observa una sobre-expresión o activación de onco-genes Raf-activantes (por ejemplo K-ras, erb-B). Estos carcinomas incluyen carcinoma de páncreas y de mama. Por lo tanto, las sustancias inhibitoras de estas tirosina-quinazas son adecuadas para prevenir y tratar enfermedades proliferativas que son causadas por estas enzimas.
- La actividad angiogénica del VEGF no se limita a los tumores. El VEGF es responsable de la actividad angiogénica producida en el caso de la retinopatía diabética en, o en la cercanía de, la retina. Este crecimiento vascular en la retina conduce a una visión débil y finalmente a la ceguera. Los niveles de VEGF-ARNm y de proteína en el ojo se incrementan por dolencias tales como la oclusión de las venas de la retina en primates así como niveles reducidos de pO₂ en ratones que conducen a neovascularización.
- Anticuerpos anti-VEGF monoclonales inyectados a nivel intraocular, o inmuno-conjugados de receptor de VEGF, inhiben la neovascularización ocular tanto en el modelo de primates como también en el de roedores. Independientemente de la causa de la inducción del VEGF en el caso de la retinopatía diabética del ser humano, la inhibición del VEGF del ojo es adecuada para tratar esta enfermedad.
- La expresión de VEGF también está muy incrementada en regiones hipóxicas de los tumores animales y humanos junto a las zonas de necrosis. Además, el VEGF se regula hacia arriba por la expresión de los oncogenes mutantes ras, raf, src y p53 (todos los cuales son de importancia al combatir el cáncer). Los anticuerpos anti-VEGF monoclonales inhiben el crecimiento de tumores humanos en el ratón desnudo. Aunque las células tumorales iguales en cultivo continúan expresando VEGF, los anticuerpos no reducen su velocidad de mitosis. De esta manera el VEGF proveniente de tumores no actúa como factor mitogénico autocrino. Por lo tanto, el VEGF contribuye de esta manera al crecimiento de tumor in vivo para que promueva la angiogénesis mediante su actividad paracrina de quimiotáctica celular endotelial vascular y mitogénica. Estos anticuerpos monoclonales también inhiben el

crecimiento de carcinomas de colon humano típicamente menos fuertemente vascularizados en ratones atímicos y reducen la cantidad de los tumores que surgen de células inoculadas.

La expresión de un constructo de Flk-1, Flt-1, que enlaza VEGF, a un homólogo de receptor de KDR de ratón truncado para eliminar los dominios citoplasmáticos de tirosina-quinasa, aunque manteniendo un ancla de membrana, detiene en virus prácticamente el crecimiento de un glioblastoma trasplantable en el ratón, presumiblemente debido al mecanismo dominante-negativo de la formación de heterodímero con receptores de VEGF celulares endoteliales de transmembrana. Las células madre embrionarias que crecen en el ratón desnudo, usualmente en forma de tumores sólidos, no forman tumores detectables en el caso de knock-out de ambos alelos de VEGF. De estos datos se desprende conjuntamente el papel del VEGF en el crecimiento de tumores sólidos. La inhibición de KDR o Flt-1 participa en la angiogénesis patológica, y estos receptores son adecuados para el tratamiento de enfermedades en las que la angiogénesis representa una parte de toda la patología, por ejemplo la inflamación, vascularización retiniana diabética, así como diversas formas de cáncer, ya que se conoce que el crecimiento tumoral es dependiente de la angiogénesis (Weidner et al., N. Engl. J. Med., 324, páginas 1-8, 1991).

La angiopoyetina 1 (Ang1), un ligando para la tirosina-quinasa TIE-2 de tipo receptor, específica de endotelio, es un nuevo factor angiogénico (Davis et al, Cell, 1996, 87:1161-1169; Partanen et al, Mol. Cell Biol., 12: 1698-1707 (1992); patente estadounidense Nos. 5,521,073; 5,879,672; 5,877,020; y 6,030,831). La abreviatura TIE significa "tirosina quinasa con dominios de homología Ig y EGF". TIE se usa para identificar una clase de tirosina-quinasa del tipo receptor, las cuales se expresan exclusivamente en células endoteliales vasculares y células hematopoyéticas tempranas. Las quinasa de tipo receptor TIE se caracterizan de modo típico por la presencia de un dominio similar a EGF y un dominio similar a inmunoglobulina (IG), los cuales se componen de unidades de plegado extracelular que se estabilizan por enlaces puente de bisulfuro entre las cadenas (Partanen et al Curr. Topics Microbiol. Immunol., 1999, 237:159-172). En contraste con el VEGF que ejerce su función en el desarrollo vascular durante los estadios tempranos, Ang1 y su receptor TIE-2 actúan durante los estadios tardíos en el desarrollo vascular, es decir durante la transformación vascular (la transformación se refiere a la formación de un lumen vascular) y maduración (Yancopoulos et al, Cell, 1998, 93:661-664; Peters, K.G., Circ. Res., 1998, 83(3):342-3; Suri et al, Cell 87, 1171-1180 (1996)).

Por consiguiente se esperaría que una inhibición de TIE-2 debería interrumpir la transformación y la maduración de un nuevo sistema vascular iniciado por angiogénesis y de esta manera el proceso de angiogénesis. Además, una inhibición en el sitio de unión de dominio de quinasa del VEGFR-2 bloquearía la fosforilación de residuos de tirosina y serviría para interrumpir la iniciación de la angiogénesis. Por lo tanto es posible suponer que la inhibición de TIE-2 y/o VEGFR-2 debe impedir la angiogénesis tumoral y servir además para ralentizar el crecimiento de tumor o eliminarlo de manera completa. De conformidad con esto podría proporcionarse un tratamiento de cáncer y de otras enfermedades asociadas con una inadecuada angiogénesis.

La presente invención se dirige a métodos para la regulación, modulación o inhibición de la TIE-2 para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad de TIE-2 desregulada o perturbada. Principalmente, también pueden emplearse los compuestos de la fórmula I en el tratamiento de ciertas formas de cáncer. Además, los compuestos de la fórmula I pueden usarse para proporcionar efectos aditivos o sinérgicos en el caso de ciertas quimioterapias del cáncer existentes, y/o pueden restaurar la eficacia de ciertas quimio- y radioterapias de cáncer existentes.

Además, los compuestos de la fórmula I pueden usarse para aislar e investigar la actividad o la expresión de TIE-2. Además, son adecuados principalmente para el uso en métodos diagnósticos para enfermedades relacionadas con la actividad de TIE-2 desregulada o perturbada.

La presente invención está dirigida además a métodos para la regulación, modulación o inhibición del VEGFR-2 para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con actividad de VEGFR-2 desregulada o perturbada.

La presente invención se refiere además a los compuestos de la fórmula I como inhibidores de Raf-quinasa.

La fosforilación de proteína es un proceso fundamental para la regulación de funciones celulares. La acción coordinada tanto de proteína-quinasa como también de fosfatasa controla el grado de fosforilación y en consecuencia la actividad de proteínas diana específicas. Uno de los roles predominantes de la fosforilación de proteína es en la transducción de señales cuando se amplifican señales extracelulares y se propagan mediante una cascada de eventos de fosforilación y defosforilación de proteína, por ejemplo en la vía p21^{ras}/raf.

El gen p21^{ras} fue descubierto como un oncogén de los virus de sarcoma en rata de Harvey y de Kirsten (H-Ras y K-Ras). En humanos, han sido asociadas mutaciones características en el gen celular Ras (c-Ras) con muchos tipos diferentes de cáncer. De estos alelos mutantes que hacen a Ras activos por constitución, se ha mostrado que transforman células en cultivo, como por ejemplo las líneas de célula de ratón NIH 3T3.

El oncogén p21^{ras} es un factor contribuyente importante en el desarrollo y progreso de carcinomas sólidos humanos y está mutado en el 30 % de todos los carcinomas humanos (Bolton et al. (1994) *Ann. Rep. Med. Chem.*, 29, 165-74; Bos. (1989) *Cancer Res.*, 49, 4682-9). En su forma normal, no mutada, la proteína Ras es un elemento clave de la cascada de transducción de señales que se controlan en casi todos los tejidos mediante receptores de factor de crecimiento (Avruch et al. (1994) *Trends Biochem. Sci.*, 19, 279-83).

Bioquímicamente Ras es una proteína que enlaza un nucleótido de guanina, y la ciclación entre una forma activada enlazada a GTP y una en reposo enlazada a GDP se controla estrictamente por la actividad de GTPasa Ras-endógena y otras proteínas reguladoras. El producto del gen Ras se enlaza a guanina-trifosfato (GTP) y guaninadifosfato (GDP) e hidroliza GTP en GDP. Ras es activo en el estado enlazado a GTP. En los mutantes Ras en las células cancerosas se debilita la actividad de GTPasa endógena, y en consecuencia la proteína emite señales de crecimiento constitutivas a efectores "downstream", como por ejemplo a la enzima Raf-quinasa. Esto conduce al crecimiento canceroso de las células que llevan estos mutantes (Magnuson et al. (1994) *Semin. Cancer Biol.*, 5, 247-53). El proto-oncogén Ras necesita un proto-oncogén C-Raf-1 funcionalmente intacto para traducir señales de crecimiento y de diferenciación iniciales en eucariotas superiores por medio de tirosina-quinazas de tipo receptor y de tipo no-receptor.

La Ras activada es necesaria para la activación del proto-oncogén C-Raf-1, pero las etapas bioquímicas por medio de las cuales Ras activa la proteína (Ser/Thr) quinasa Raf-1, están entre tanto, sin embargo, bien caracterizadas. Se ha mostrado que la inhibición del efecto de Ras activo por la inhibición de la vía de señal de Raf-quinasa administrando anticuerpos desactivantes a Raf-quinasa o mediante la co-expresión de Raf quinasa negativa dominante o MEK negativa dominante (MAPKK), el sustrato de Raf quinasa, conduce a la reversión de células transformadas en el fenotipo de crecimiento normal, véase: Daum et al. (1994) *Trends Biochem. Sci.*, 19, 474-80; Fridman et al. (1994) *J Biol. Chem.*, 269, 30105-8. Kolch et al. (1991) *Nature*, 349, 426-28) y para reseña Weinstein-Oppenheimer et al. *Farm. & Therap.* (2000), 88, 229-279.

De manera similar se correlacionó la inhibición de Raf-quinasa (por oligodesoxinucleótido antisentido) in vitro e in vivo con la inhibición del crecimiento de una serie de diversos tipos de tumor humanos (Monia et al., *Nat. Med.* 1996, 2, 668-75).

Raf-serina- y treonina-quinazas, específicas de proteína, son enzimas citosólicas que estimulan el crecimiento celular en una serie de diferentes sistemas celulares (Rapp, U.R., et al. (1988) en *The Oncogene Handbook*; T. Curran, E.P. Reddy y A. Skalka (editores) Elsevier Science Publishers; Holanda, páginas 213-253; Rapp, U.R., et al. (1988) *Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol.* 53:173-184; Rapp, U.R., et al. (1990) *Inv Curr. Top. Microbiol. Immunol.* Potter y Melchers (editores), Berlín, editorial Springer-Verlag 166:129-139).

Se han caracterizado tres isozimas:

C-Raf (Raf-1) (Bonner, T.I., et al. (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:1009-1015). A-Raf (Beck, T.W., et al. (1987) *Nucleic Acids Res.* 15:595-609), y B-Raf (Qkawa, S., et al. (1998) *Mol. Cell. Biol.* 8:2651-2654; Sithanandam, G. et al. (1990) *Oncogene*:1775). Estas enzimas se distinguen por su expresión en diferentes tejidos. Raf-1 se expresa en todos los órganos y en todas las líneas celulares que se investigaron, y A- y B-Raf se expresan en tejidos urogenitales o del cerebro (Storm, S.M. (1990) *Oncogene* 5:345-351). Los genes Raf son proto-oncogenes: pueden iniciar la transformación maligna de células si se expresan en formas específicamente modificadas. Las modificaciones genéticas que conducen a la activación oncogénica generan una proteína-quinasa, activa por constitución, mediante inhabilitación o interferencia con un dominio regulador negativo N-terminal de la proteína (Heidecker, G., et al. (1990) *Mol. Cell. Biol.* 10:2503-2512; Rapp, U. R., et al. (1987) en *Oncogenes and Cancer*; S. A. Aaronson, J. Bishop, T. Sugimura, M. Terada, K. Toyoshima y P. K. Vogt (editores) Japan Scientific Press, Tokio). Microinyección en células 3T3 NIH de versiones activadas oncogénicamente, pero no de tipo silvestre de la proteína Raf preparada con vectores de expresión de *Escherichia coli* conduce a la transformación morfológica y estimula la síntesis de ADN (Rapp, U.R., et al. (1987) en *Oncogenes and Cancer*; S. A. Aaronson, J. Bishop, T. Sugimura, M. Terada, K. Toyoshima, y P. K. Vogt (editores) Japan Scientific Press, Tokio; Smith, M. R., et al. (1990) *Mol. Cell. Biol.* 10:3828-3833).

En consecuencia, Raf-1 activado es un activador intracelular del crecimiento celular. Raf-1-proteína-serina-quinasa es un candidato para el efector "downstream" de la transducción de señales de mitógeno puesto que los Raf-oncogenes tratan el paro de crecimiento que resulta de un bloqueo de la actividad celular de Ras a causa de una mutación celular (células revertidas Ras) o una microinyección de anticuerpos anti-Ras (Rapp, U.R., et al. (1988) en *The Oncogene Handbook*, T. Curran, E.P. Reddy y A. Skalka (editores), Elsevier Science Publishers; Holanda, páginas 213-253; Smith, M.R., et al. (1986) *Nature* (Londres) 320:540-543).

La función C-Raf es necesaria para la transformación mediante una serie de diferentes oncogenes enlazados a la membrana y para la estimulación de crecimiento mediante mitógenos contenidos en sueros (Smith, M.R., et al. (1986) *Nature* (Londres) 320:540-543). La actividad de Raf-1-proteína-serina-quinasa se regula por mitógenos mediante la fosforilación (Morrison, D.K., et al. (1989) *Cell* 58:648-657), la cual también causa la distribución

subcelular (Olah, Z., et al. (1991) *Exp. Brain Res.* 84:403; Rapp, U.R., et al. (1988) *Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol.* 53:173-184. A los factores de crecimiento activadores de Raf-1 pertenecen: el factor de crecimiento proveniente de trombocitos (PDGF) (Morrison, D.K., et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8855-8859), el factor estimulante de colonias (Baccarini, M., et al. (1990) *EMBO J.* 9:3649-3657), Insulin (Blackshear, P.J., et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265:12115-12118), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Morrison, R.K., et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8855-8859), interleuquina-2 (Turner, B.C., et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1227) e interleuquina-3 y el factor estimulante de colonias de macrófagos-granulocitos (Carroll, M.P., et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265:19812-19817).

Después del tratamiento mitogénico de células, la Raf-1-proteína-serina-quinasa activada de modo temporal se traslada al área perinuclear y al núcleo (Olah, Z., et al. (1991) *Exp. Brain Res.* 84:403; Rapp, U.R., et al. (1988) *Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol.* 53:173-184). Las células que contienen Raf activado se modifican en su patrón de expresión génica (Heidecker, G., et al. (1989) en genes y transducción de señal en carcinogénesis multietapas, N. Colburn (editor), Marcel Dekker, Inc., Nueva York, páginas 339-374) y los Raf-oncogenes activan la transcripción de promotores dependientes de Ap-1/PEA3 en ensayos de transfección transitoria (Jamal, S., et al. (1990) *Science* 344:463-466; Kaibuchi, K., et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:20855-20858; Wasyluk, C., et al. (1989) *Mol. Cell. Biol.* 9:2247-2250).

Existen al menos dos vías independientes para la activación de Raf-1 mediante mitógenos extracelulares: una que incluye la proteína-quinasa y una segunda que se inicia por proteína-tirosina-quinasas (Blackshear, P.J., et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265:12131-12134; Kovacina, K.S., et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265:12115-12118; Morrison, D.K., et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8855-8859; Siegel, J.N., et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265: 18472-18480; Turner, B.C., et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1227). En cada caso, la activación incluye fosforilación de Raf-1-proteína. La fosforilación de Raf-1 puede ser una consecuencia de una cascada de quinasa que se amplifica por la autofosforilación o puede provocarse completamente por la autofosforilación que se inicia por diacilglicerina enlazando un supuesto ligando de activación a los dominios reguladores de Raf-1, de modo análogo a la activación de PKC (Nishizuka, Y. (1986) *Science* 233:305-312).

Uno de los mecanismos principales mediante el cual se ocasiona la regulación celular es mediante la transducción de las señales extracelulares a través de la membrana que a su vez modulan las vías bioquímicas en la célula. La fosforilación de proteína representa un proceso a través del cual se propagan señales intracelulares de molécula a molécula, lo cual finalmente resulta en una respuesta celular. Estas cascadas de transducción de señales se regulan hacia arriba y se solapan a menudo, tal como se infiere de la presencia de muchas proteína-quinasa como también de fosfatasa. La fosforilación de proteínas aparece de modo preponderante en los residuos de serina, treonina o tirosina y, por este motivo, las proteína-quinasa se han clasificado según la especificidad de su lugar de fosforilación, es decir las serina/treonina quinasa y las tirosina quinasa. Puesto que la fosforilación es un proceso en las células ampliamente difundido y puesto que los fenotipos celulares se ven influidos en gran parte por la actividad de estas vías, se supone en la actualidad que una cantidad de estados patológicos y/o enfermedades debe atribuirse a la activación discrepante o a las mutaciones funcionales en los componentes moleculares de las cascadas de quinasa. En consecuencia, se ha otorgado gran importancia a la caracterización de estas proteínas y compuestos que son capaces de modular su actividad (véase artículo sinóptico: Weinstein-Oppenheimer et al. *Pharma. & Therap.*, 2000, 88, 229-279).

Por lo tanto se desea la síntesis de pequeños compuestos que inhiben, regulan y/o modulan específicamente la transducción de señales de las tirosina quinasa y/o Raf-quinasa y constituye un objeto de la presente invención.

Se halló que los compuestos según la invención y sus sales poseen propiedades farmacológicas muy valiosas con una buena tolerancia.

Principalmente, éstos muestran propiedades inhibitorias de la tirosina-quinasa. Además se encontró que los compuestos de la invención son inhibidores de la enzima Raf-quinasa. Puesto que la enzima es un efector "downstream" de p21^{ras}, los inhibidores en composiciones farmacéuticas demuestran ser útiles para la aplicación médica humana o veterinaria si está indicada la inhibición de la vía de Raf-quinasa, por ejemplo en el tratamiento de tumores y/o en el crecimiento celular del tipo cáncer mediado por la Raf-quinasa. Los compuestos son principalmente útiles en el tratamiento de carcinomas sólidos en el ser humano y en animales, por ejemplo de cáncer de ratón, ya que el progreso de este cáncer depende de la cascada de transducción de señales de Ras-proteína y por eso reacciona al tratamiento interrumpiendo la cascada, es decir inhibiendo la Raf-quinasa. De conformidad con esto, el compuesto de la invención, o una sal del mismo aceptable en farmacia, se administra para el tratamiento de enfermedades mediadas por la vía de Raf-quinasa, particularmente cáncer, incluidos carcinomas sólidos tales como, por ejemplo, carcinomas (por ejemplo, de los pulmones, del páncreas, de la tiroides, de la vejiga de orina o del colon), enfermedades mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide) o adenomas (por ejemplo, adenoma vellosa de colon), angiogénesis patológica y migración de células metastásica. Los compuestos son además útiles en el tratamiento de la inflamación crónica dependiente de activación de complemento (Niculescu et al. (2002) *Immunol. Res.*, 24:191-199) e inmunodeficiencias inducidas por HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus o virus de inmunodeficiencia humana tipo 1) (Popik et al. (1998) *J Virol*, 72: 6406-6413).

Se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos de la invención son capaces de interactuar con vías de señalización, particularmente con las vías de señalización descritas en la presente y preferiblemente con la vía de señalización de Raf-quinasa. Los compuestos de la invención muestran preferiblemente una actividad biológica enzimática que es fácilmente detectable en ensayos a base de enzimas, por ejemplo ensayos tales como los descritos en la presente. En ensayos de este tipo a base de enzimas los compuestos de la invención muestran y provocan preferiblemente un efecto inhibitorio que se documenta habitualmente mediante valores IC₅₀ en un intervalo adecuado, preferiblemente en el intervalo micromolar y más preferiblemente en el intervalo nanomolar.

Tal como se discute en la presente invención, estas vías de señalización son relevantes para diferentes enfermedades. De conformidad con esto, los compuestos de la invención son útiles en la profilaxis y/o en el tratamiento de enfermedades que dependen de las vías de señalización mencionadas por la interacción con una o varias de las mencionadas vías de señalización. Por esto, son objeto de la presente invención los compuestos según la invención como promotores o inhibidores, preferiblemente como inhibidores de las vías de señalización aquí descritas. Por esto, son objeto preferido de la invención los compuestos según la invención como promotores o inhibidores, preferiblemente como inhibidores, de la vía de Raf-quinasa. Por esto, un objeto más preferido de la invención son compuestos según la invención como promotores o inhibidores, preferiblemente como inhibidores de la Raf-quinasa. Un objeto aún más preferido de la invención son compuestos según la invención como promotores o inhibidores, preferible como inhibidores de una o varias Raf-quinasas, seleccionadas del grupo que se compone de A-Raf, B-Raf y C-Raf-1. Un objeto particularmente preferido de la invención son compuestos según la invención como promotores o inhibidores, preferiblemente como inhibidores de C-Raf-1.

Otro objeto de la presente invención es el uso de uno o varios compuestos según la invención en el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, preferiblemente de las enfermedades aquí descritas, que son causadas, mediadas y/o propagadas por Raf-quinasas y principalmente enfermedades que son causadas, mediadas y/o propagadas por Raf-quinasas seleccionadas del grupo que se compone de A-Raf, B-Raf y C-Raf-1. Las enfermedades aquí discutidas se dividen en dos grupos, en enfermedades hiperproliferativas y no hiperproliferativas. En relación con esto, psoriasis, artritis, inflamaciones, endometriosis, formación de cicatrices, hiperplasia prostática benigna, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades de inmunodeficiencia se consideran enfermedades no cancerosas, de las cuales artritis, inflamación, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades de inmunodeficiencia habitualmente se consideran enfermedades no hiperproliferativas. A este respecto, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer de epitelio escamoso, cáncer de vejiga, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, cáncer de esófago, cáncer ginecológico, cáncer de tiroides, linfomas, leucemia crónica y leucemia aguda se consideran como enfermedades cancerosas, todas las cuales usualmente se consideran enfermedades hiperproliferativas. Principalmente el crecimiento celular canceroso y principalmente el crecimiento celular cancerosos mediado por Raf-quinasa es una enfermedad que representa un objeto de la presente invención. Por eso, son objeto de la presente invención los compuestos según la invención como medicamentos y/o principios activos medicamentosos en el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades mencionadas y el uso de los compuestos según la invención para preparar un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades mencionadas, como también un método para el tratamiento de las enfermedades mencionadas que comprende la administración de uno o de varios compuestos según la invención a un paciente con necesidad de una administración de este tipo.

Puede mostrarse que los compuestos de la invención presentan un efecto antiproliferativo in vivo en un modelo de tumor – xenotransplante. Los compuestos de la invención se administran a un paciente con una enfermedad hiperproliferativa, por ejemplo para la inhibición del crecimiento de tumor, para la reducción de la inflamación asociada con una enfermedad linfoproliferativa, para la inhibición del rechazo de trasplante o del daño neurológico debido a la reparación tisular, etc. Los presentes compuestos son útiles para propósitos profilácticos o terapéuticos. Tal como se usa en la presente, el término "tratar" se usa como referencia tanto a la prevención de enfermedades como también al tratamiento de las dolencias preexistentes. La prevención de la proliferación se logra administrando los compuestos de la invención antes del desarrollo de la enfermedad manifiesta, por ejemplo para prevenir el crecimiento de tumor, prevenir crecimiento metastásico, disminuir la restenosis asociada con la cirugía cardiovascular, etc. Como alternativa se usan los compuestos para el tratamiento de enfermedades permanentes por estabilización o mejoramiento de los síntomas clínicos del paciente.

El huésped o paciente puede pertenecer a cualquier especie mamífera, por ejemplo, a una especie de primates, particularmente humanos; roedores, incluidos ratones, ratas y hámsteres; conejos; equinos, bovinos, caninos, felinos; etc. Los modelos animales son de interés para las investigaciones experimentales, en cuyo caso proporcionan un modelo para el tratamiento de una enfermedad en seres humanos.

La susceptibilidad de una célula particular al tratamiento con los compuestos según la invención puede ser determinada por medio de pruebas in vitro. Normalmente, un cultivo de la célula se combina con un compuesto según la invención en diversas concentraciones durante un tiempo suficiente para permitir que los ingredientes activos induzcan la muerte celular o inhiban la migración, habitualmente entre aproximadamente una hora y una

semana. Para una prueba in vitro pueden usarse células cultivadas de una muestra de biopsia. Luego se cuentan las células viables que quedaron después del tratamiento.

5 La dosis varía dependiendo del compuesto específico utilizado, del trastorno específico, del estado del paciente, etc. Normalmente, una dosis terapéutica es suficiente para reducir sustancialmente la población celular no deseable en el tejido diana, mientras se conserva la viabilidad del paciente. El tratamiento continúa generalmente hasta que se produzca una reducción sustancial, por ejemplo, de al menos aproximadamente 50 % de disminución de la carga celular, y puede continuar hasta que ya no se detecten esencialmente más células indeseables en el cuerpo.

10 Para identificar una vía de transferencia de señales y para detectar las interacciones entre las diferentes vías de transferencia de señales, diversos científicos han desarrollado modelos o sistemas de modelos adecuados, por ejemplo modelos de cultivos celulares (por ejemplo Khwaja et al., EMBO, 1997, 16, 2783-93) y modelos de animales transgénicos (por ejemplo, White et al., Oncogene, 2001, 20, 7064-7072). Para determinar determinadas etapas en la cascada de transferencia de señales pueden utilizarse compuestos interactivos para modular la señal (por ejemplo Stephens et al., Biochemical J., 2000, 351, 95-105). Los compuestos según la invención también pueden ser utilizados como reactivos para el ensayo de vías de transferencia de señales dependientes de quinasas en modelos de animales y/o de cultivos celulares o en las enfermedades clínicas mencionadas en esta solicitud.

15 La medición de la actividad de las quinasas es una técnica bien conocida por el experto en la materia. En la bibliografía se describen sistemas de ensayo genéricos para determinar la actividad de las quinasas con sustratos, por ejemplo histona (por ejemplo, Alessi et al., FEBS Lett. 1996, 399, 3, páginas 333-338) o de la proteína mielítica básica (por ejemplo Campos-González, R. y Glenney, Jr., J.R. 1992, J. Biol. Chem. 267, página 14535).

20 Para identificar los inhibidores de quinasas se encuentran disponibles diferentes sistemas de ensayos. En el ensayo de proximidad con centelleo (scintillation-proximity) (Sorg et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 7, 11-19) y en el ensayo de placa flash (flashplate) se mide la fosforilación radioactiva de una proteína o péptido como sustrato con γ ATP. En presencia de un compuesto inhibidor no es posible detectar una señal radioactiva o solamente es detectable una menor. Además, las tecnologías de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia con resolución temporal homogénea (Homogeneous Time-resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer, HTR-FRET) y de polarización de fluorescencia (FP) son útiles como métodos de ensayo (Sills et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 191-214).

30 Otros métodos de ensayo ELISA no radioactivos emplean fosfo-anticuerpos (fosfo-AC) específicos. El fosfo-AC solamente enlaza el sustrato fosforilado. Este enlace es detectable mediante quimioluminiscencia con un segundo anticuerpo anti-oveja conjugado con peroxidasa (Ross et al., 2002, Biochem. J. inmediatamente antes de la publicación, manuscrito BJ20020786).

35 Existen muchos trastornos asociados con una desregulación de la proliferación celular y la muerte celular (apoptosis). Las dolencias de interés incluyen las siguientes dolencias pero no se limitan a las mismas. Los compuestos según la invención son útiles en el tratamiento de una serie de distintas dolencias en las que se presenta proliferación y/o migración de las células de la musculatura lisa, y/o células inflamatorias a la capa íntima de un vaso, que resulta en un flujo sanguíneo restringido a través de ese vaso, por ejemplo, lesiones oclusivas neoíntimas. Entre los trastornos vasculares oclusivos de trasplante de interés se cuentan aterosclerosis, enfermedad vascular coronaria después de trasplante, estenosis de trasplante de vena, restenosis de injerto protésico perianastomótico, restenosis después de angioplastia o colocación del stent, y similares.

40 Los compuestos de la invención son adecuados como inhibidores de p38 quinasa.

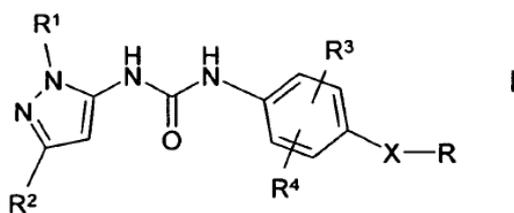
En las WO 02/85859, WO 02/85857 WO99/3211 se describen heteroarilureas que inhiben p38 quinasa.

Estado de la técnica

En WO 99/23091, WO 99/32106, WO 99/32111 y WO 99/32455 se describen otros derivados de urea para combatir el cáncer.

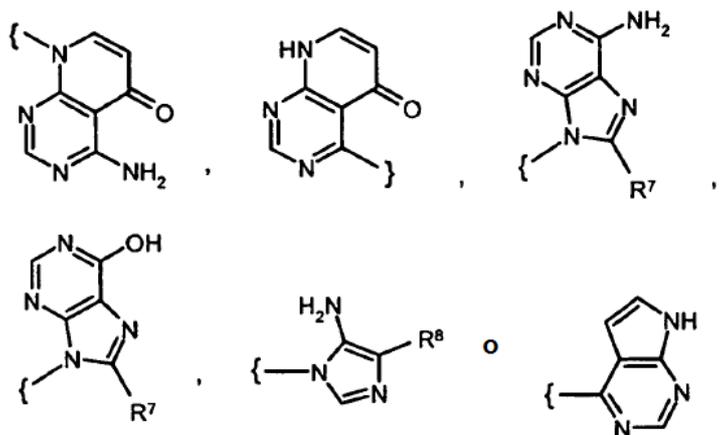
45 Resumen de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I



Donde

R significa



5 X está ausente o significa CH₂, NH, O o S,

R¹ significa fenilo no sustituido o mono-, bi- o trisustituido con A y/o Hal,

R² significa A, R¹ o Het¹,

R³, R⁴ significan, cada uno, independientemente entre sí, H, A, Hal, OH, OA o CN,

R⁵, R⁶ significan, cada uno, independientemente entre sí H o A,

10 R⁷ significa H o A,

R⁸ significa H o CONH₂,

Het¹ significa un heterociclo monocíclico aromático con 1 a 4 átomos de N, O y/o S, el cual puede estar mono- o bisustituido con Hal y/o A,

15 A significa alquilo con 1-10 átomos de C, en cuyo caso 1-7 átomos de H también pueden estar reemplazados por F y/o cloro,

Hal significa F, Cl, Br o I,

así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

20 También son objeto de la invención las formas ópticamente activas (estereoisómeros), los enantiómeros, los racematos, los diastereoisómeros, así como los hidratos y los solvatos de estos compuestos. Por solvatos de los compuestos se entienden adiciones de moléculas de disolventes inertes a los compuestos, las cuales se forman por su fuerza de atracción mutua. Solvatos son, por ejemplo, monohidratos o dihidratos o alcoholatos.

La expresión "cantidad efectiva" significa la cantidad de un medicamento o de un principio activo farmacéutico que provoca una respuesta biológica o médica en un tejido, un sistema, un animal o en el ser humano la cual se busca o se pretende, por ejemplo, por un investigador o un médico.

5 Además, la expresión "cantidad con efecto terapéutico" significa una cantidad que en comparación con un sujeto correspondiente que no haya recibido esta cantidad, tiene lo siguiente como consecuencia:

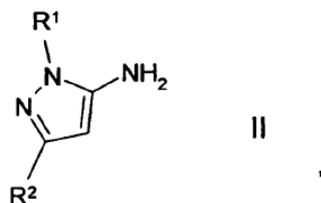
mejor tratamiento curativo, curación, prevención o eliminación de una enfermedad, de una sintomatología, de un estado patológico, de una dolencia, de un trastorno o de efectos colaterales o también la disminución del avance de una enfermedad, de una dolencia o de un trastorno.

10 La denominación "cantidad con efecto terapéutico" también abarca las cantidades efectivas para incrementar la función fisiológica normal.

También es objeto de la invención el uso de mezclas de los compuestos de la fórmula I, por ejemplo mezclas de dos diaestereoisómeros, por ejemplo, en proporción 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 o 1:1000.

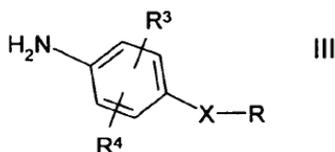
De manera particularmente preferida se trata de mezclas de compuestos estereoisómeros.

15 Son objeto de la invención los compuestos de la fórmula I y sus sales, así como un procedimiento para la preparación de compuestos de la fórmula I de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, así como de sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de la fórmula II



donde R¹ y R² tienen los significados indicados en la reivindicación 1,

20 con 4-nitrofenil-cloroformiato y con un compuesto de la fórmula III



donde R, X, R³ y R⁴ tienen los significados indicados en la reivindicación 1,

y/o

una base o ácido de la fórmula I se convierte en una de sus sales.

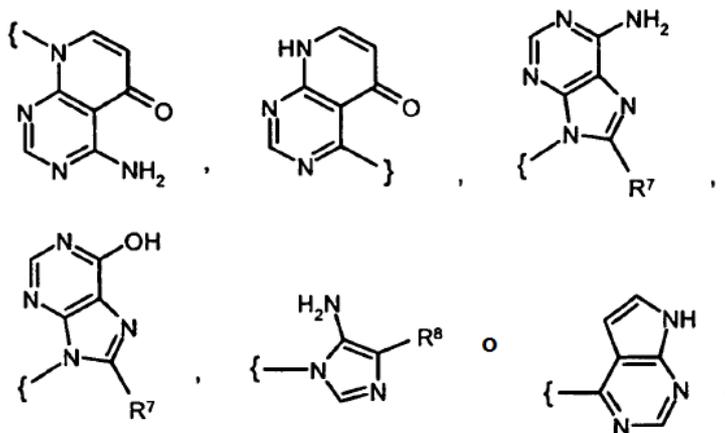
25 Previamente y a continuación, los residuos R, X, R¹, R², R³ y R⁴ tienen los significados indicados en el caso de la fórmula I, siempre que no se indique algo diferente de modo explícito.

30 A significa alquilo, es no ramificado (linear) o ramificado, y tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de C. A significa preferentemente metilo, además etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec.-butilo o ter.-butilo, además también pentilo, 1-, 2- o 3-metilbutilo, 1,1-, 1,2- o 2,2-dimetilpropilo, 1-etilpropilo, hexilo, 1-, 2-, 3- o 4-metilpentilo, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- o 3,3-dimetilbutilo, 1- o 2-etilbutilo, 1-etil-1-metilpropilo, 1-etil-2-metilpropilo, 1,1,2- o 1,2,2-trimetilpropilo, además se prefiere, por ejemplo, trifluorometilo.

A significa de modo muy particularmente preferido alquilo con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de C, preferentemente metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec.-butilo, ter.-butilo, pentilo, hexilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo o 1,1,1-trifluoroetilo.

35 Cicloalquilo significa preferentemente ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo.

R significa



donde

R⁷ significa H o A,

5 R⁸ significa H o CONH₂.

R¹ significa por ejemplo fenilo, o-, m- o p-tolilo, o-, m- o p-etilfenilo, o-, m- o p-propilfenilo, o-, m- o p-isopropilfenilo, o-, m- o p-ter.-butilfenilo, o-, m- o p-trifluorometilfenilo, o-, m- o p-fluorofenilo, o-, m- o p-bromofenilo, o-, m- o p-clorofenilo, además se prefiere 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-difluorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-diclorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-dibromofenilo, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,6- o 3,4,5-triclorofenilo, p-yodofenilo, 4-fluor-3-clorofenilo, 2-fluor-4-bromofenilo, 2,5-difluor-4-bromofenil o 2,5-dimetil-4-clorofenil.

10

R¹ significa de modo particularmente preferido fenilo, 4-fluorofenilo, m-tolilo, p-tolilo, 4-isopropilfenilo o 3- o 4-trifluorometilfenilo.

R² significa de modo particularmente preferido ter.-butilo, 2-furilo o p-tolilo.

R³ y R⁴ significan preferentemente H.

15 X está ausente preferentemente o significa NH.

Het¹ significa preferentemente 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 1-, 2- o 3-pirrolilo, 1-, 2-, 4- o 5-imidazolilo, 1-, 3-, 4- o 5-pirazolilo, 2-, 4- o 5-oxazolilo, 3-, 4- o 5-isoxazolilo, 2-, 4- o 5-tiazolilo, 3-, 4- o 5-isotiazolilo, 2-, 3- o 4-piridilo, 2-, 4-, 5- o 6-pirimidinilo, además se prefiere 1,2,3-triazol-1-, -4- o -5-ilo, 1,2,4-triazol-1-, -3- o 5-ilo, 1- o 5-tetrazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4- o -5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3- o -5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2- o -5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3- o -5-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4- o -5-ilo, 3- o 4-piridazinilo o pirazinilo, en cuyo caso los residuos pueden estar mono- o bisustituido con Hal y/o A. Het¹ significa de modo particularmente preferido piridilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirimidinilo o imidazolilo.

20

Hal significa preferentemente F, Cl o Br, pero también I, particularmente preferible F o Cl.

25 Para toda la invención es válido que todos los residuos que aparecen varias veces pueden ser iguales o diferentes, es decir son independientes entre sí.

Los compuestos de la fórmula I pueden poseer uno o varios centros quirales y, por lo tanto, pueden presentarse en diferentes formas estereoisoméricas. La fórmula I incluye todas estas formas.

30 Por consiguiente son objeto de la invención principalmente aquellos compuestos de la fórmula I, en los que al menos uno de los residuos mencionados tiene uno de los significados preferidos indicados previamente. Algunos grupos preferidos de compuestos pueden expresarse mediante las siguientes fórmulas parciales la a le que corresponden a la fórmula I y donde los residuos no designados con más detalle tienen el significado indicado en el caso de la fórmula I,

donde no obstante

en la X está ausente o significa NH;

en Ib Het¹ significa piridilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirimidinilo o imidazolilo;

5 en Ic A significa alquilo no ramificado o ramificado, con 1-6 átomos de C, donde 1-5 átomos de H pueden estar reemplazados por F y/o cloro;

en Id R³, R⁴ significan H;

en le R³, R⁴ significan H,

X está ausente o significa NH,

Het¹ significa piridilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirimidinilo o imidazolilo,

10 A significa alquilo no ramificado o ramificado, con 1-6 átomos de C, donde 1-5 átomos de H pueden estar reemplazados por F y/o cloro;

así como sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

15 Los compuestos de la fórmula I y también los materiales de partida para su preparación se preparan por lo demás de acuerdo con métodos conocidos per se, tal como se describen en la bibliografía (por ejemplo en las obras estándar como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie [Métodos de la química orgánica], editorial Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), y de hecho en condiciones de reacción que son conocidas y adecuadas para las reacciones mencionadas. En tal caso también puede hacerse uso de variantes conocidas per se, no mencionadas aquí con mayor detalle.

20 Pueden obtenerse compuestos de la fórmula I preferentemente haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula II con 4-nitrofenil-cloroformiato y con compuestos de la fórmula III. La reacción se efectúa preferentemente como reacción en un solo reactor.

Los compuestos de la fórmula II y de la fórmula III son por lo regular conocidos.

25 La reacción se efectúa por lo regular en un disolvente inerte, opcionalmente en presencia de una base inorgánica como, por ejemplo, un carbonato de metal alcalino o alcalino-térreo, o de una base orgánica como, por ejemplo, trietilamina, piridina o N-etildisopropilamina.

El tiempo de reacción se encuentra, según las condiciones aplicadas, entre algunos minutos y 14 días, la temperatura de reacción entre aproximadamente -15° y 150°, normalmente entre -5° y 60°, particularmente preferible entre 10° y 30°.

30 Como disolventes inertes son apropiados, por ejemplo, hidrocarburos tales como hexano, éter de petróleo, benceno, tolueno o xileno; hidrocarburos clorados, tales como tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetracloruro de carbono, cloroformo o diclorometano; alcoholes, tales como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol o ter-butanol; éteres tales como éter dietílico, éter diisopropílico, tetrahidrofurano (THF) o dioxano; glicoléteres tales como etilenglicolmonometil- o -monoetiléter (metilglicol o etilglicol), etilenglicoldimetiléter (diglime); cetonas tales como acetona o butanona; amidas tales como acetamida, dimetilacetamida o dimetilformamida (DMF); nitrilos tales como acetonitrilo; sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido (DMSO); disulfuro de carbono; ácidos carboxílicos tales como ácido fórmico o ácido acético; nitro-compuestos tales como nitrometano o nitrobenceno; ésteres tales como acetato de etilo, o mezclas de los disolventes mencionados.

Particularmente se prefiere diclorometano y/o DMF.

40 Sales farmacéuticas y otras formas

45 Los compuestos mencionados de la invención pueden usarse en su forma final no salina. Por otra parte, la presente invención también comprende el uso de estos compuestos en forma de sus sales aceptables en farmacia que pueden derivarse de distintos ácidos y bases, orgánicos e inorgánicos, según formas de proceder conocidas por el especialista. Las formas salinas aceptables en farmacia de los compuestos de la fórmula I se preparan en su gran mayoría de manera convencional. Siempre que el compuesto de la fórmula I contiene un grupo de ácido carboxílico,

una de sus sales adecuadas puede formarse convirtiendo el compuesto con una base adecuada en la sal por adición de bases correspondiente. Bases de este tipo son, por ejemplo, hidróxidos de metal alcalino, entre ellos hidróxido de potasio, hidróxido de sodio e hidróxido de litio; hidróxidos de metal alcalinotérreo tales como hidróxido de bario e hidróxido de calcio; alcoholatos de metal alcalino, por ejemplo etanolato de potasio y propanolato de sodio; así como distintas bases orgánicas tales como piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. Las sales de aluminio de los compuestos de la fórmula I también se cuentan aquí. En el caso de determinados compuestos de la fórmula I pueden formarse sales por adición de ácidos tratando estos compuestos con ácidos orgánicos e inorgánicos aceptables en farmacia, por ejemplo ácidos halohídricos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico o ácido yodhídrico, otros ácidos minerales y sus correspondientes sales tales como sulfato, nitrato o fosfato y similares, así como alquil- y monoarilsulfonatos tales como etansulfonato, toluensulfonato y bencensulfonato, así como otros ácidos orgánicos y sus correspondientes sales tales como acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato y similares. Conforme a esto, entre las sales por adición de ácidos aceptables en farmacia de los compuestos de la fórmula I se cuentan las siguientes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, bencensulfonato (besilato), bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclopentanpropionato, digluconato, dihidrofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etansulfonato, fumarato, galacterato (a partir de ácido múxico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodohidrato, 2-hidroxietansulfonato, yoduro, isetionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metansulfonato, metilbenzoato, monohidro-fosfato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, lo cual, sin embargo, no representa una limitación.

Además, entre las sales básicas de los compuestos según la invención se cuentan sales de aluminio, de amonio, de calcio, de cobre, de hierro (III), de hierro (II), de litio, de magnesio, de manganeso (III), de manganeso (II), de potasio, de sodio y de cinc, lo cual, sin embargo, no debe representar una limitación. Entre las sales antes mencionadas se prefieren las de amonio; las sales de metales alcalinos sodio y potasio, así como las sales de metales alcalinotérreos calcio y magnesio. Entre las sales de los compuestos de la fórmula I que se derivan de bases no tóxicas orgánicas aceptables en farmacia, se cuentan sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, entre ellas también aminas sustituidas de procedencia natural, aminas cíclicas así como resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo arginina, betaina, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina (benzatina), dicitclohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, así como tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina), lo cual, sin embargo, no debe representar una limitación.

Pueden cuaternizarse compuestos de la presente invención que contienen grupos básicos nitrogenados, con agentes tales como haluros de alquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de metilo, etilo, isopropilo y ter.-butilo; dialquil (C₁-C₄)-sulfatos, por ejemplo dimetil-, dietil- y diamilsulfato; haluros de alquilo (C₁₀-C₁₈), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo y estearilo; así como haluros de aril-alquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro de bencilo y bromuro de fenetilo. Con tales sales pueden prepararse compuestos de la invención, solubles tanto en agua como también en aceite.

Entre las sales farmacéuticas arriba mencionadas preferidas, se cuentan acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemisuccinato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sodio, estearato, sulfato, sulfosalicilato, tartrato, tiomalato, tosilato y trometamina, lo cual, sin embargo, no debe representar una limitación.

Las sales por adición de ácidos de compuestos básicos de la fórmula I se preparan poniendo en contacto la forma básica libre con una cantidad suficiente del ácido deseado, por lo cual se produce la sal de manera usual. La base libre puede regenerarse de manera usual poniendo en contacto la forma salina con una base y aislando la base libre. Las formas básicas libres se distinguen en cierto sentido de sus correspondientes formas salinas respecto de determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares; sin embargo, en el contexto de la invención, las sales corresponden por lo demás a sus correspondientes formas básicas libres.

Tal como se mencionó, las sales por adición de bases aceptables en farmacia de los compuestos de la fórmula I se forman con metales o aminas tales como metales alcalinos o alcalinotérreos o aminas orgánicas. Son metales preferidos sodio, potasio, magnesio y calcio. Son aminas orgánicas preferidas N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metil-D-glucamina y procaína.

Las sales por adición de bases de los compuestos ácidos según la invención se preparan poniendo en contacto la forma ácida libre con una cantidad suficiente de la base deseada, por lo cual se produce la sal de manera usual. El ácido libre se puede regenerar de manera usual poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre. Las formas ácidas libres se distinguen en cierto sentido de sus formas salinas correspondientes respecto

de determinadas propiedades físicas tales como la solubilidad en disolventes polares; sin embargo, en el contexto de la invención, las sales corresponden, por lo demás, a sus respectivas formas ácidas libres.

5 Si un compuesto según la invención contiene más de un grupo que puede formar tales sales aceptables en farmacia, la invención comprende también sales múltiples. Entre las formas salinas múltiples típicas se cuentan, por ejemplo, bitartrato, diacetato, difumarato, dimeglumina, difosfato, disodio y triclorhidrato, lo cual, sin embargo, no debe representar una limitación.

10 En cuanto a lo anteriormente dicho, se ve que, por la expresión "sal aceptable en farmacia" en el presente contexto se entiende un principio activo que contiene un compuesto de la fórmula I en forma de una de sus sales, principalmente cuando esta forma salina le confiere al principio activo propiedades farmacocinéticas mejoradas, en comparación con la forma libre del principio activo u otra forma salina del principio activo que se hubiera utilizado con anterioridad. La forma salina aceptable en farmacia del principio activo también puede otorgarle a este principio activo sólo una propiedad farmacocinética deseada de la que antes no disponía, e incluso puede afectar positivamente la farmacodinámica de este principio activo respecto de su eficacia terapéutica en el cuerpo.

15 También son objeto de la invención los medicamentos que contienen al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus derivados, solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones y, opcionalmente, excipientes y/o coadyuvantes.

20 Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse en forma de unidades de dosis que contienen por unidad de dosis una cantidad predeterminada de principio activo. Una unidad de este tipo puede contener, por ejemplo, 0,5 mg a 1 g, preferentemente 1 mg a 700 mg, con preferencia especial 5 mg a 100 mg de un compuesto de la invención, dependiendo del estado patológico tratado, la vía de administración y la edad, el peso y el estado del paciente, o bien pueden administrarse formulaciones farmacéuticas en forma de unidades posológicas que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por unidad posológica. Las formulaciones de unidad posológica preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una dosis parcial, tal como se indicó arriba, o una fracción correspondiente de la misma de un principio activo. Además, tales formulaciones farmacéuticas pueden prepararse mediante un método conocido en términos generales en el campo farmacéutico especializado.

30 Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para ser administradas por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por vía oral (incluida la vía bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluida la vía bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluida la vía subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Formulaciones de este tipo pueden prepararse mediante todos los métodos conocidos en el campo farmacéutico especializado, juntando, por ejemplo, el principio activo con el o los excipientes o coadyuvantes.

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración oral pueden ser administradas como unidades separadas como, por ejemplo, cápsulas o comprimidos; polvos o granulados; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o mousses; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

40 De esta manera, en el caso de la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente activo puede combinarse, por ejemplo, con un excipiente inerte oral, no tóxico y aceptable en farmacia como, por ejemplo, etanol, glicerina, agua, etc. Se preparan polvos triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de similar manera como, por ejemplo, un carbohidrato comestible como, por ejemplo, almidón o manita. Asimismo puede estar presente un saborizante, un conservante, un dispersante y un colorante.

45 Las cápsulas se producen preparando una mezcla en polvo tal como se describe arriba y llenando con ella vainas de gelatina moldeadas. Los lubricantes tales como, por ejemplo, ácido silícico de alta dispersión, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida pueden adicionarse a la mezcla en polvo antes del proceso de llenado. Asimismo puede agregarse un desintegrante o un solubilizante como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, a fin de mejorar la disponibilidad del medicamento después de la ingesta de la cápsula.

50 Además, en caso de ser deseado o necesario, también pueden incorporarse a la mezcla aglutinantes, lubricantes y desintegrantes adecuados, así como colorantes. A los aglutinantes adecuados corresponden almidón, gelatina, azúcares naturales tales como, por ejemplo, glucosa o betalactosa, endulzantes de maíz, goma natural y sintética como, por ejemplo, acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, etc. A los lubricantes utilizados en estas formas posológicas pertenecen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, etc. A los desintegrantes pertenecen, sin limitarse a ellos, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantano, etc. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla pulverulenta, granulándola o comprimiéndola en seco, agregando un lubricante y un desintegrante y comprimiendo todo en tabletas. Se prepara una mezcla pulverulenta mezclando un compuesto

55

5 triturado de una manera apropiada con un diluyente o una base, tal como se describió arriba, y opcionalmente con un aglutinante tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardador de la solución como, por ejemplo, parafina, un acelerador de la resorción como, por ejemplo, una sal cuaternaria y/o un agente de absorción como, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla pulverulenta puede
 10 granularse mojándola con un aglutinante como, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos, y presionándola a través de un tamiz. Como alternativa para la granulación se deja pasar la mezcla pulverulenta por una máquina para hacer tabletas, en cuyo caso se generan grumos moldeados de manera no homogénea que se parten en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral, a fin de evitar que se peguen a los
 15 moldes de fundición para tabletas. La mezcla lubricada se comprime luego en tabletas. Los compuestos según la invención también pueden combinarse con un excipiente inerte fluido y luego comprimirse directamente en tabletas sin realizar etapas de granulación o compresión en seco. También puede estar presente una capa de protección transparente u opaca compuesta por una cubierta de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa brillante de cera. A estos revestimientos pueden agregarse colorantes para poder diferenciar las diferentes unidades posológicas.

Los líquidos orales como, por ejemplo, soluciones, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma de unidades posológicas, de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada de compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa con sabor adecuado, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse por dispersión del
 20 compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden agregarse solubilizantes y emulsionantes como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos saborizantes como, por ejemplo, aceite de menta o endulzantes naturales o sacarina u otros endulzantes artificiales, etc.

Las formulaciones de unidades posológicas para la administración oral pueden incluirse opcionalmente en microcápsulas. La formulación también puede prepararse de modo que se prolongue o se retrase la liberación como,
 25 por ejemplo, por revestimiento o incrustación de material en forma de partículas en polímeros, ceras, etc.

Los compuestos de la fórmula I, así como sus sales y solvatos también pueden administrarse en forma de sistemas de suministro de liposomas como, por ejemplo, vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden formarse a partir de diversos fosfolípidos como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

30 Los compuestos de la fórmula I así como sus sales y solvatos también pueden ser suministrados usando los anticuerpos monoclonales como soportes individuales, a los que se acoplan las moléculas de los compuestos. Los compuestos también pueden acoplarse con polímeros solubles como portadores medicamentosos dirigidos a una diana. Tales polímeros pueden comprender polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, fenol de polihidroxipropilmetacrilamida, fenol de polihidroxietilaspártamida o polilisina de poli(óxido de etileno), sustituidos con
 35 residuos de palmitoílo. Además, los compuestos pueden estar acoplados a una clase de polímeros biodegradables que son adecuados para lograr una liberación controlada de un medicamento, por ejemplo, poli(ácido láctico), poliepsilon-caprolactona, poli(ácido hidroxibutírico), polioctoésteres, poliacetales, polidihidroxipiranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración transdérmica pueden administrarse como parches independientes para un contacto estrecho prolongado con la epidermis del receptor. De esta manera puede
 40 suministrarse, por ejemplo, el principio activo del parche por medio de iontoforesis, tal como se describe en general en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Los compuestos farmacéuticos adaptados a la administración tópica pueden estar formulados en forma de ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, espráis, aerosoles o aceites.

45 Para los tratamientos oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como ungüento o crema tópicos. Al formular un ungüento, el principio activo puede aplicarse ya sea con una base de crema parafínica o una miscible con agua. De modo alternativo, el principio activo puede formularse en una crema con una base cremosa de aceite en agua o una base de agua en aceite.

A las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la aplicación tópica en los ojos, pertenecen las gotas oftálmicas, en cuyo caso el principio activo está disuelto o suspendido en un soporte adecuado, principalmente un disolvente acuoso.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la aplicación tópica en la boca comprenden tabletas de disolución oral, pastillas y enjuagues bucales.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la aplicación rectal pueden administrarse en forma de supositorios o enemas.

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración nasal, en las cuales la sustancia soporte es una sustancia sólida, contienen un polvo grueso con una granulometría dentro del intervalo, por ejemplo, de 20-500 micrómetros, que se administra de la manera en que se aspira rapé, es decir inhalándolo rápidamente a través de las vías nasales desde un recipiente con el polvo sostenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas para administrar como espray nasal o gotas nasales con un líquido como sustancia soporte comprenden soluciones de principio activo en agua o aceite.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración por inhalación comprenden polvos de partículas finas o neblinas que pueden ser generados por medio de distintos tipos de dosificadores a presión con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración vaginal pueden ser administradas como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en espray.

15 Entre las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la administración parenteral se cuentan las soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas, que contienen antioxidantes, amortiguadores de pH, bacteriostáticos y solutos, a través de los cuales la formulación se vuelve isotónica con la sangre del paciente en tratamiento; así como suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden contener agentes de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden administrarse en recipientes de dosis únicas o múltiples, por ejemplo, ampollas y viales sellados y almacenarse en estado liofilizado, de modo que solamente se requiere la adición del líquido vehículo estéril, por ejemplo agua para fines inyectables, inmediatamente antes de usar. Las soluciones inyectables y las suspensiones preparadas según la receta pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles.

Se entiende que las formulaciones, además de los componentes particularmente mencionados arriba, pueden contener otros productos usuales en el campo especializado respecto de cada tipo de formulación; de esta manera, las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden contener saborizantes, por ejemplo.

25 Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I depende de una serie de factores, incluidos por ejemplo la edad y el peso del animal, el estado patológico exacto que requiere de tratamiento, así como su gravedad, la naturaleza de la formulación así como la vía de administración, y en últimas es determinada por el médico o veterinario tratante. Sin embargo, una cantidad efectiva de un compuesto según la invención para el tratamiento de crecimiento neoplásico, por ejemplo carcinoma de intestino o de mama, se encuentra en general en el intervalo de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día y en particular, típicamente, en el intervalo de 1 a 10 mg/kg de peso corporal por día. De esta manera, para un mamífero adulto de 70 kg la cantidad efectiva por día sería usualmente de 70 a 700 mg, en cuyo caso esta cantidad puede administrarse como dosis única por día o más usualmente en una serie de dosis parciales (como, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) por día, de modo que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal o solvato o de uno de sus derivados fisiológicamente funcional puede determinarse per se como parte de la cantidad eficaz del compuesto de la invención. Puede suponerse que dosis similares son adecuadas para el tratamiento de los otros estados patológicos mencionados arriba.

40 Son objeto de la invención, además, los medicamentos que contienen al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus derivados, solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones y al menos otro principio activo medicamentoso.

También es objeto de la invención un kit que consiste en envases separados de

(a) una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y/o de sus solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones, y

(b) una cantidad efectiva de otro ingrediente activo medicamentoso.

45 El kit contiene recipientes apropiados como cajas, frascos, bolsas (sachets) o ampollas individuales. El kit puede contener, por ejemplo, ampollas separadas en las que está presente respectivamente una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y/o de sus solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones y una cantidad efectiva de otro principio activo medicamentoso disuelto o en forma liofilizada.

Uso

50 Los presentes compuestos son adecuados como principios activos farmacéuticos para mamíferos, principalmente seres humanos, en el tratamiento de enfermedades inducidas por las tirosina-quinásas. Entre estas enfermedades

se cuentan la proliferación de células tumorales, la neoformación vascular patológica (o angiogénesis) que estimula el crecimiento de tumores sólidos, la neoformación vascular en el ojo (retinopatía diabética, la degeneración macular asociada a la edad y similares), así como inflamación (psoriasis, artritis reumatoide y similares).

5 La presente invención comprende el uso de los compuestos de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para preparar un medicamento para el tratamiento o la prevención de cáncer. Los carcinomas preferidos para el tratamiento provienen del grupo de carcinoma de cerebro, carcinoma del tracto urogenital, carcinoma del sistema linfático, carcinoma de estómago, carcinoma de laringe y carcinoma de pulmón. Otro grupo de formas cancerosas preferidas son leucemia monocítica, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastomas y carcinoma de mama. Asimismo
10 está comprendido el uso de los compuestos de la invención de acuerdo con la reivindicación 1 y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para preparar un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad en la que participa la angiogénesis.

Una enfermedad de este tipo, en la que participa la angiogénesis, es una oftalmopatía, como la vascularización retiniana, la retinopatía diabética, la degeneración macular asociada a la edad y similares.

15 El uso de los compuestos de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para preparar un medicamento para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias, también entra dentro del alcance de la presente invención. Entre este tipo de enfermedades inflamatorias se cuentan, por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto, tipo tardío de la reacción de hipersensibilidad y similares.

20 También está comprendido el uso de los compuestos de la fórmula I y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para preparar un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inducida por las tirosina quinasas o una dolencia inducida por las tirosina quinasas en un mamífero, en cuyo caso en este método se administra a un mamífero enfermo que requiere de este tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto según la invención. La cantidad terapéutica depende de la respectiva enfermedad y puede ser
25 determinada por el especialista sin gran esfuerzo. La presente invención también comprende el uso de los compuestos de la fórmula I y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para preparar un medicamento para el tratamiento o la prevención de una vascularización retiniana.

Los métodos para el tratamiento o la prevención de oftalmopatías como retinopatía diabética y degeneración macular asociada a la edad también son un componente de la invención. El uso para el tratamiento o la prevención
30 de enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto y tipos tardíos de la reacción de hipersensibilidad, así como el tratamiento o la prevención de osteopatías del grupo de osteosarcoma, osteoartritis y raquitismo, entra asimismo dentro del alcance de la presente invención.

La expresión "enfermedades o dolencias inducidas por las tirosina quinasas" se refiere a estados patológicos que dependen de la actividad de una o varias tirosina quinasas. Las tirosina quinasas participan, directa o indirectamente, en las vías de transducción de señales de diversas actividades celulares, entre ellas la proliferación,
35 la adhesión y la migración, así como la diferenciación. Entre las enfermedades que están asociadas con la actividad de las tirosina quinasas, se cuentan la proliferación de células tumorales, la neoformación vascular patológica que estimula el crecimiento de tumores sólidos, la neoformación vascular en el ojo (retinopatía diabética, degeneración macular asociada a la edad y similares), así como inflamación (psoriasis, artritis reumatoide y similares).

40 Los compuestos de la fórmula I pueden administrarse a pacientes para el tratamiento del cáncer. Los presentes compuestos inhiben la angiogénesis de tumor y afectan de esa manera el crecimiento de tumores (J. Rak et al. Cancer Research, 55:4575-4580, 1995). Las propiedades inhibitoras de angiogénesis de los presentes compuestos de la fórmula I también son adecuadas para tratar formas determinadas de ceguera que están relacionadas con la neoformación vascular de retina.

45 Los compuestos de la fórmula I también son adecuados para el tratamiento de determinadas osteopatías como osteosarcoma, osteoartritis y raquitismo, que también se conoce bajo la denominación de osteomalacia oncogénica (Hasegawa et al., Skeletal Radiol. 28, páginas 41-45, 1999; Gerber et al., Nature Medicine, vol. 5, No. 6, páginas 623-628, Junio 1999). Puesto que el VEGF promueve directamente la resorción ósea osteoclástica mediante KDR/Flk-1 expresado en osteoclastos maduros (FEBS Let. 473:161-164 (2000); Endocrinology, 141:1667 (2000)),
50 los presentes compuestos también son adecuados para el tratamiento de dolencias que están relacionadas con resorción ósea, como la osteoporosis y la enfermedad de Paget.

Los compuestos también pueden usarse para la reducción o la prevención de daño tisular que ocurre después de eventos isquémicos cerebrales, tales como apoplejía, reduciendo el edema cerebral, el daño tisular y las lesiones de reperfusión asociadas a la isquemia (Drug News Perspect 11:265-270 (1998); J. Clin. Invest. 104:1613-1620 (1999)).

De esta manera es objeto de la invención el uso de compuestos de la fórmula I, así como de sus solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades en las que desempeña un papel la inhibición, regulación y/o modulación de la transducción de señales de quinasas.

5 En este caso se prefieren quinasas seleccionadas del grupo de tirosina-quinasas y Raf-quinasas.

Las tirosina-quinasas son preferentemente TIE-2, VEGFR, PDGFR, FGFR y/o FLT/KDR.

Se prefiere el uso de compuestos de la fórmula I, así como de sus solvatos de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones para preparar un medicamento para el tratamiento de enfermedades que se influncian por la inhibición de las tirosina-quinasas mediante los compuestos según la reivindicación 1.

10 Los compuestos de la fórmula I inhiben o regulan la transducción de señales mediada por quinasas, principalmente de la subfamilia de receptor de insulina (IR), Insulin like growth factor-1 (factor de crecimiento – 1 similar a insulina), Insulin related receptor o IRR (receptor relacionado con insulina), como también ROS, ALK, LTK, TIE-1 y TIE-2.

Particularmente se prefiere el uso para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que se influncian inhibiendo TIE-2, VEGFR, PDGFR, FGFR y/o FLT/KDR mediante los compuestos según la reivindicación 1.

15

Principalmente se prefiere el uso para el tratamiento de una enfermedad, en cuyo caso la enfermedad es un tumor sólido.

20 El tumor sólido está seleccionado, preferentemente, del grupo de tumores del epitelio escamoso, de las vejigas, del estómago, de los riñones, de la cabeza y el cuello, de esófago, de cuello uterino, de la tiroides, del intestino, del hígado, del cerebro, de la próstata, del tracto urogenital, del sistema linfático, del estómago, de la laringe y/o de pulmón.

Además, el tumor sólido también se selecciona preferentemente del grupo de adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastomas, carcinoma de colon y carcinoma de mama.

25 Además, se prefiere el uso para el tratamiento de un tumor del sistema sanguíneo e inmunitario, preferentemente para el tratamiento de un tumor seleccionado del grupo de leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfática aguda y/o leucemia linfática crónica.

Además, es objeto de la invención el uso de los compuestos de la fórmula I para el tratamiento de una enfermedad en la que participa la angiogénesis.

30 La enfermedad es preferentemente una oftalmopatía.

Además, es objeto de la invención el uso de los compuestos de la fórmula I para el tratamiento de vascularización de retina, retinopatía diabética, degeneración de mácula asociada a la edad y/o enfermedades inflamatorias.

La enfermedad inflamatoria se selecciona preferentemente del grupo que proviene de artritis reumatoide, psoriasis y tipo tardío de la reacción de hipersensibilidad.

35 Además, es objeto de la invención el uso de los compuestos de la invención para el tratamiento de osteo-patologías en cuyo caso la osteopatología proviene del grupo de osteosarcoma, osteoartritis y raquitismo.

40 Los compuestos de la fórmula I son adecuados para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que son causadas, mediadas y/o propagadas por Raf-quinasas, en cuyo caso la Raf-quinasa es seleccionada del grupo que se compone de A-Raf, B-Raf y Raf-1. Se prefiere el uso para el tratamiento de enfermedades preferentemente del grupo de las enfermedades hiperproliferativas y no proliferativas.

En este caso se trata de enfermedades cancerosas o enfermedades no cancerosas.

45 Las enfermedades no cancerosas se seleccionan del grupo que se compone de psoriasis, artritis, inflamaciones, endometriosis, formación de cicatrices, hiperplasia benigna de próstata, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades de inmunodeficiencia. Las enfermedades cancerosas se seleccionan del grupo que se compone de cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer de epitelio escamoso, cáncer de vejiga, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de riñones, cáncer colorrectal,

cáncer de mama, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, cáncer de esófago, cáncer de ginecológico, cáncer de tiroides, linfoma, leucemia crónica y leucemia aguda.

Los compuestos de la fórmula I también pueden administrarse conjuntamente con otros agentes terapéuticos bien conocidos que se seleccionan debido a su respectiva aptitud para la dolencia tratada. En el caso de osteopatías serían favorables combinaciones que contengan los bisfosfonatos con acción antiresortiva, tales como alendronato y risedronato, bloqueadores de integrina (tal como continúan definiéndose abajo), como antagonistas de $\alpha\beta_3$, estrógenos conjugados usados en la terapia hormonal tales como Prempro®, Premarin® y Endometrin®; moduladores selectivos de receptor de estrógeno (SERMs) como raloxifeno, droloxifeno, CP-336,156 (Pfizer) y lasofoxifeno, inhibidores de catepsina-K e inhibidores de bombas de protones ATP.

Los presentes compuestos también son adecuados para la combinación con agentes anticancerosos conocidos. Entre estos agentes anticancerosos conocidos se cuentan los siguientes: moduladores de receptor de estrógeno, moduladores de receptor de andrógeno, moduladores de receptor de retinoide, citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de prenil-proteína-transferasa, inhibidores de HMG-CoA-reductasa, inhibidores de HIV-proteasa, inhibidores de transcriptasa inversa así como otros inhibidores de angiogénesis. Los presentes compuestos son adecuados principalmente para la aplicación conjunta con radioterapia. Los efectos sinérgicos de la inhibición del VEGF en combinación con radioterapia han sido descritos en el campo de la especialidad (véase WO 00/61186).

"Moduladores de receptor de estrógeno" se refieren a compuestos que obstaculizan el enlace de estrógeno al receptor o lo inhiben, y de hecho de modo independiente de cómo esto suceda. Entre los moduladores de receptor de estrógeno se cuentan, por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, idoxifeno, LY353381, LY 117081, toremifeno, fulvestrant, 4-[7-(2,2-dimetil-1-oxopropoxi-4-metil-2-[4-[2-(1-piperidinil)etoxi]fenil]-2H-1-benzopiran-3-il)fenil]-2,2-dimetilpropanoato, 4,4'-dihidroxibenzofenon-2,4-dinitrofenilhidrazona y SH646, lo cual no debe representar una restricción.

"Moduladores de receptor de andrógeno" se refieren a compuestos que obstaculizan el enlace de andrógenos al receptor o lo inhiben, y de hecho de modo independiente de cómo esto sucede. Entre los moduladores de receptor de andrógeno se cuentan, por ejemplo, finasterid y otros inhibidores de 5 α -reductasa, nilutamid, flutamid, bicalutamid, liarozol y acetato de abiraterona.

"Moduladores de receptor de retinoide" se refieren a compuestos que obstaculizan el enlace de retinoides al receptor o que lo inhiben, de modo independiente de cómo esto sucede. Entre tales moduladores de receptor de retinoide se cuentan, por ejemplo, bexaroteno, tretinoína, ácido 13-cis-retinoico, ácido 9-cis-retinoico, α -difluorometilornitina, ILX23-7553, trans-N-(4'-hidroxifenil)retinamida y N-4-carboxifenilretinamida.

"Citotóxicos" se refiere a compuestos que conducen a la muerte celular en primer lugar por acción directa sobre la función celular o inhiben la miosis celular o la obstaculizan, entre ellos agentes de alquilación, factores de necrosis tumorales, agentes intercaladores, inhibidores de microtubulina e inhibidores de topoisomerasa.

Entre los citotóxicos se cuentan, por ejemplo, tirapazimina, sertenef, caquectina, ifosfamida, tasonermina, lonidamina, carboplatino, altretamina, prednimustina, dibromdulcít, ranimustina, fotemustina, nedaplatino, oxaliplatino, temozolomid, heptaplatino, estramustina, tosilato de improsulfano, trofosfamida, nimustina, cloruro de dibrospidio, pumitepa, lobaplatino, satraplatino, profiromicina, cisplatino, irofulveno, dexifosfamida, cis-amindicloro(2-metilpiridin)platino, bencilguanina, glufosfamida, GPX100, (trans,trans,trans)-bis-mu-(hexan-1,6-diamin)-mu-[diaminplatino(II)]bis-[diamin(cloro)platino(II)]-tetracloruro, diarizidinilspermina, trióxido de arsénico, 1-(11-dodecilamino-10-hidroxiundecil)-3,7-dimetilxantina, zorubicina, idarubicina, daunorubicina, bisantreno, mitoxantrona, pirarubicina, pinafid, valrubicina, amrubicina, antineoplastona, 3'-desamino-3'-morfolino-13-desoxo-10-hidroxicarminomicina, annamicina, galarubicina, elinafid, MEN10755 y 4-desmetoxi-3-desamino-3-aziridinil-4-metilsulfonil-daunorubicina (véase WO 00/50032), lo cual, sin embargo, no debe representar una restricción.

Entre las inhibidores de microtubulina se cuentan, por ejemplo, paclitaxel, sulfato de vindesina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-8'-norvincalucoblastina, docetaxol, rizoxina, dolastatina, isetionato de mivobulina, auristatina, cemadotina, RPR109881, BMS184476, vinflunina, criptoficina, 2,3,4,5,6-pentafluor-N-(3-fluor-4-metoxifenil)benzolsulfonamida, anhidrovinblastina, N,N-dimetil-L-valil-L-valil-N-metil-L-valil-L-prolil-L-prolin-t-butilamida, TDX258 y BMS188797.

Inhibidores de topoisomerasa son, por ejemplo, topotecano, hicaptamina, irinotecano, rubitecano, 6-etoxipropionil-3',4'-O-exo-benciliden-cartreusina, 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazolo[3,4,5-k]acridin-2-(6H)propanamina, 1-amino-9-etil-5-fluor-2,3-dihidro-9-hidroxi-4-metil-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':b,7]indolizino[1,2b]quinolin-10,13(9H,15H)-diona, lurtotecano, 7-[2-(N-isopropilamino)etil]-(20S)camptotecina, BNP1350, BNPI1100, BN80915, BN80942, fosfato de etopósido, teniposido, sobuzoxano, 2'-dimetilamino-2'-desoxi-etoposido, GL331, N-[2-(dimetilamino)etil]-9-hidroxi-5,6-dimetil-6H-pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, asulacrina, (5a,5aB,8aa,9b)-9-[2-[N-[2-(dimetilamino)etil]-N-metilamino]etil]-5-[4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil]-5,5a,6,8,8a,9-hexohidrofuro(3',4':6,7)nafto(2,3-d)-1,3-dioxol-6-ona, 2,3-(metilen-dioxi)-5-metil-7-hidroxi-8-metoxibenzo[c]fenantridino, 6,9-bis[(2-aminoetil)amino]benzo[g]isoquinolin-

5,10-diona, 5-(3-aminopropilamino)-7,10-dihidroxi-2-(2-hidroxiethylaminometil)-6H-pirazolo[4,5,1-de]acridin-6-ona, N-[1-[2(dietilamino)etilamino]-7-metoxi-9-oxo-9H-tioxanten-4-ilmetil]formamida, N-(2-(dimetil-amino)-etil)acridin-4-carboxamida, 6-[[2-(dimetilamino)-etil]amino]-3-hidroxi-7H-indeno[2,1-c]quinolin-7-ona y dimesna.

Entre los "agentes antiproliferativos" se cuentan oligonucleótidos de ADN y ARN antisentido como G3139, ODN698, RVASKRAS, GEM231 y INX3001, así como antimetabolitos como enocitabina, carmofur, tegafur, pentostatina, doxifluridina, trimetrexato, fludarabina, capecitabina, galocitabina, ocfosfato de citarabina, sodiohidrato de fosteabina, raltitrexed, paltitrexid, emitefur, tiazofurina, decitabina, nolatrexed, pemetrexed, nelzarabina, 2'-desoxi-2'-metilidencitidina, 2'-fluorometilen-2'-desoxicidina, N-[5-(2,3-dihidrobencofuril)sulfonil]-N'-(3,4-diclorofenil)urea, N6-[4-desoxi-4-[N2-[2(E),4(E)-tetradecadienoil]glicilamino]-L-glicero-B-L-mano-heptopiranosil]adenina, aplidina, ecteinascidina, troxacitabina, ácido 4-[2-amino-4-oxo-4,6,7,8-tetrahidro-3H-pirimidino[5,4-b][1,4]tiazin-6-il-(S)-etil]-2,5-tienoil-L-glutámico, aminopterina, 5-fluorouracilo, alanosina, 11-acetil-8-(carbamoiloximetil)-4-formil-6-metoxi-14-oxa-1,11-diaza-tetraciclo(7.4.1.0.0)-tetradeca-2,4,6-trien-9-ilacetato, swainsonina, lometrexol, dexrazoxano, metioninasa, 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-B-D-arabinofuranosilcitosina y 3-aminopiridin-2-carboxaldehid-tiosemicarbazona. Los "agentes antiproliferativos" también incluyen otros anticuerpos monoclonales contra factores de crecimiento como los ya listados bajo los "inhibidores de angiogénesis", como trastuzumab, así como genes supresores de tumor tales como p53, que pueden entregarse mediante transferencia de genes mediada por virus (véase, por ejemplo, la patente estadounidense No. 6,069,134).

Además es un objeto de la invención el uso de los compuestos de la fórmula I para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades, en cuyo caso la enfermedad se caracteriza por angiogénesis perturbada. La enfermedad es preferentemente una enfermedad cancerosa.

La angiogénesis perturbada resulta preferentemente de una actividad perturbada de VEGFR-1, VEGFR2 y/o VEGFR-3.

Por lo tanto, particularmente también se prefiere el uso de los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento para inhibir la actividad de VEGFR-2.

25 Ensayos

Los compuestos de la fórmula I descritos en los ejemplos fueron ensayados en los ensayos descritos abajo y se encontró que presentan una acción inhibitoria de quinasa. Otros ensayos son conocidos de la bibliografía y fácilmente podrían realizarse por parte del experto en la materia (véase, por ejemplo, Dhanabal et al., Cancer Res. 59: 189-197; Xin et al., J. Biol. Chem. 274:9116-9121; Sheu et al., Anticancer Res. 18:4435-4441; Ausprunk et al., Dev. Biol. 38:237-248; Gimbrone et al., J. Natl. Cancer Inst. 52:413-427; Nicosia et al., In Vitro 18:538- 549).

Ensayo de quinasa receptora de VEGF

La actividad de quinasa receptora de VEGF se determina incorporando fosfato marcado radioactivamente al sustrato de ácido poliglutámico/tirosina 4:1 (pEY). El producto pEY fosforilado se fija a una membrana de filtro y la incorporación del fosfato marcado radioactivamente se determina cuantitativamente por medio de conteo por centelleo (scintillation).

Materiales

Quinasa receptora de VEGF

Los dominios de tirosina-quinasa intracelular del KDR humano (Terman, B. I. et al. Oncogene (1991) vol. 6, páginas 1677-1683.) y Flt-1 (Shibuya, M. et al. Oncogene (1990) vol. 5, páginas 519-524) se clonaron como proteína de fusión de gen de glutatión-S-transferasa (GST). Esto ocurrió por clonación de los dominios de citoplasma de la KDR-quinasa como fusión de marco en el terminal carboxilo del GST-gen. Las proteínas de fusión de dominio de GST-quinasa recombinantes solubles se expresaron en células de insecto *Spodoptera frugiperda* (Sf21) (Invitrogen) usando un vector de expresión baculovirus (pAcG2T, Farmingen).

Búfer de lisado

45 Tris de 50 mM pH 7,4, NaCl de 0,5 M, DTT de 5 mM, EDTA de 1 mM, Triton X-100 de 0,5%, glicerina de 10%, leupeptina, pepstatina y aprotinina cada uno de 10 mg/ml así como fenilmetilsulfonilfluoruro de 1 mM (todos de Sigma).

Búfer de lavado

ES 2 406 737 T3

Tris de 50 mM pH 7,4, NaCl de 0,5 M, DTT de 5 mM, EDTA de 1 mM, Triton X-100 de 0.05%, glicerina de 10%, leupeptina, pepstatina y aprotinina cada una de 10 mg/ml así como fenilmetilsulfonilfluoruro de 1 mM.

Búfer de diálisis

5 Tris de 50 mM pH 7,4, NaCl de 0,5 M, DTT de 5 mM, EDTA de 1 mM, Triton X-100 de 0.05%, glicerina de 50%, leupeptina, pepstatina y aprotinina cada una de 10 mg/ml así como fenilmetilsulfonilfluoruro de 1 mM.

10x Búfer de reacción

Tris de 200 mM, pH 7,4, NaCl de 1,0 M, $MnCl_2$ de 50 mM, DTT de 10 mM y albúmina de suero bovino [bovine serum albumin = BSA] (Sigma).

Búfer de dilución de enzima

10 Tris de 50 mM, pH 7,4, NaCl de 0,1 M, DTT de 1 mM, glicerina de 10%, BSA de 100 mg/ml.

10x Sustrato

Ácido poliglutámico /tirosina; 4:1) de 750 mg/ml (Sigma).

Solución de detención

Ácido tricloroacético de 30%, pirofosfato de sodio de 0,2 M (ambos de Fisher).

15 Solución de lavado

Ácido tricloroacético de 15%, pirofosfato de sodio de 0,2 M.

Placas de filtro

Millipore #MAFC NOB, GF/C placas de fibra de vidrio de 96 cavidades.

Método A – Purificación de proteína

20 1. Las células Sf21 se infectaron con el virus recombinante a una m.o.i. (multiplicidad de la infección) de 5 partículas de virus / célula y se cultivaron durante 48 horas a 27°C.

25 2. Todas las etapas se realizaron a 4°C. Las células infectadas se recolectaron mediante centrifugación a 1000xg y se lisaron por 30 minutos a 4°C con 1/10 volumen de búfer de lisado y a continuación se centrifugó por 1 hora a 100.000xg. Al sobrenadante se adicionó luego un ácido de glutatona-sefarosa (Farmacia) equilibrada con búfer de lisado y se lavó con 5 volúmenes del mismo búfer y a continuación con 5 volúmenes de búfer de lavado. La proteína de GST-KDR recombinante fue eluída con búfer de lavado /glutatona reducida de 10 mM (Sigma) y se sometió a diálisis frente a búfer de diálisis.

Método B – Ensayo de quinasa receptora de VEGF

1. Adicionar 5 μ l de sustancia inhibidora o control al ensayo en DMSO de 50%.

30 2. Mezclar con 35 μ l de mezcla de reacción que contiene 5 μ l de 10x búfer de reacción, 5 μ l de ATP de 25 mM /10 μ Cl [33 P]ATP (Amersham) y 5 μ l 10x sustrato.

3. Iniciar la reacción adicionando 10 μ l de KDR (25 nM) a búfer de dilución de enzima.

4. Mezclar e incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.

5. Detener la reacción adicionando 50 μ l de solución de detención.

35 6. Incubar por 15 minutos a 4°C.

7. Transferir alícuota de 90- μ l a placas de filtro.

8. Succionar y lavar 3 veces con solución de lavado.

9. Adicionar 30 ml de coctel de centelleo, cerrar la placa y contar en un contador de centelleo tipo Wallac Microbeta.

Ensayo de mitogénesis en células endoteliales de vena umbilical humana

5 La expresión de receptores de VEGF, que facilitan las respuestas al factor de crecimiento, está restringida a células endoteliales vasculares. Las células endoteliales de vena umbilical humana cultivadas (HUVECs) proliferan como reacción al tratamiento con VEGF y pueden usarse como sistema de ensayo para la determinación cuantitativa de los efectos de inhibidores de KDR-quinasa sobre la estimulación del VEGF. En el ensayo descrito, se tratan capas celulares individuales de HUVECs en estado de reposo por dos horas antes de adicionar VEGF o "basic fibroblast growth factor" (bFGF) (factor de crecimiento de fibroblasto básico) con el constituyente (vehículo) o el compuesto de prueba. La reacción mitogénica a VEGF o bFGF se determina midiendo la incorporación de [3H]timidina al ADN de la célula.

Materiales

HUVECs

15 HUVECs congelados se obtienen de Clonetics Corp como aislados primarios de cultivo. Las células se obtienen en el medio de crecimiento endotelial (Endothelial Growth Medium = EGM; Clonetics) y se usan para ensayos mitogénicos en los pasajes 3. - 7.

Placas de cultivo

NUNCLON placas de cultivo de tejido de poliestireno de 96 cavidades (pocillos) (NUNC #167008).

Medio de ensayo

20 Medio de Eagle modificado según Dulbecco con 1 g/ml de glucosa (DMEM con bajo contenido de glucosa; Mediatech) más 10% (v/v) de suero bovino fetal (Clonetics).

Compuestos de prueba

25 Con las soluciones stock de trabajo de los compuestos de prueba se realiza una dilución en serie con 100% de dimetilsulfóxido (DMSO) hasta que sus concentraciones sean 400 veces superiores a la concentración final deseada. Las últimas diluciones (concentración 13) se preparan con el medio de ensayo inmediatamente antes de adicionar a las células.

10x Factores de crecimiento

Soluciones del VEGF 165 humano (500 ng/ml; R&D Systems) y bFGF (10 ng/ml; R&D Systems) se preparan con medio de ensayo.

30 10x[³H]-Timidina

[Metil-3H]-timidina (20 Ci/mmol; Dupont-NEN) se diluye con medio DMEM con un bajo contenido de glucosa a 80 µCi/ml.

Medio de lavado de células

35 Hank's balanced salt solution (Solución salina balanceada de Hank) (Mediatech) que contiene 1 mg/ml de albúmina de suero bovino (Boehringer-Mannheim).

Solución de lisado de células

NaOH de 1 N, Na₂CO₃ (peso/volumen) de 2%.

Método 1

Capas de células individuales mantenidas en EGM se recolectan mediante tratamiento de tripsina y se inoculan en una densidad de 4000 células por 100 µl de medio de ensayo por pocillo e placas de 96 pocillos. El crecimiento de las células se detiene 24 horas a 37°C en una atmósfera húmeda que contiene CO₂ al 5%.

Método 2

- 5 El método de detención de crecimiento se reemplaza por 100 µl de medio de ensayo, que contiene o bien el vehículo (0,25% [v/v] de DMSO) o la concentración final deseada del compuesto de ensayo. Todas las determinaciones se realizan por triplicado. Las células se incuban luego por 2 horas a 37°C/5% de CO₂, de tal modo que pueden insertarse los compuestos de ensayo a las células.

Método 3

- 10 Después de un pre-tratamiento de 2 horas las células se estimulan adicionando 10 µl de medio de ensayo, solución de 10x VEGF o solución de 10x bFGF-S por pocillo. Luego las células se incuban a 37°C/CO₂ de 5%.

Método 4

Después de 24 horas en presencia de factores de crecimiento se mezcla con 10x [³H]-timidina (10 µl/pocillo).

Método 5

- 15 Tres días después de mezclar con [³H]-timidina se filtra con succión el medio y las células se lavan dos veces con medio de lavado de células (400 µl/pocillo, después 200 µl/pocillo). Las células adherentes lavadas se solubilizan adicionando solución de lisado de células (100 µl/pocillo) y calentando por 30 minutos a 37°C. Los lisados de células se transfieren a tubitos de centelleo, de vidrio, de 7 ml, los cuales contienen 150 µl de agua. Se mezcla con el coctel de centelleo (5 ml/tubito), y se determina la radiactividad asociada con las células mediante espectroscopia de centelleo de líquido.
- 20

De acuerdo con estos ensayos los compuestos de la fórmula I representan inhibidores de VEGF y son adecuados, por lo tanto, para la inhibición de la angiogénesis, tal como en el tratamiento de oftalmopatías, por ejemplo retinopatía diabética, y para el tratamiento de carcinomas, por ejemplo de tumores sólidos. Los presentes compuestos inhiben la mitogénesis estimulada por VEGF de células endoteliales vasculares humanas cultivadas con valores HK50 de 0,01-5,0 µM. Estos compuestos también son selectivos en comparación con las tirosina-quinazas relacionadas (por ejemplo, FGFR1 y la familia Src; para la relación entre Src-quinazas y VEGFR-quinazas véase Eliceiri et al., Molecular Cell, vol. 4, páginas 915-924, diciembre 1999).

25

Los ensayos de TIE-2 pueden realizarse de modo análogo, por ejemplo, a los métodos indicados en WO 02/44156.

- 30 El ensayo determina la actividad inhibidora de las sustancias a ensayarse en la fosforilación del sustrato poli(Glu, Tir) por Tie-2-quinasa en presencia de ³³P-ATP radioactivo. El sustrato fosforilado se enlaza a la superficie de una placa de titulación "flashplate" durante el tiempo de incubación. Después de retirar la mezcla de reacción, la placa de microtitulación se lava varias veces y luego se mide la radiactividad en la superficie de la microplaca. Un efecto inhibidor de las sustancias a medirse tiene una radioactividad más baja en comparación con una reacción enzimática no perturbada.

- 35 Previamente y a continuación, todas las temperaturas se indican en °C. En los ejemplos que figuran a continuación, "procesamiento usual" significa que, de ser necesario, se agrega agua, de ser necesario se ajusta, según la constitución del producto final, a valores pH de entre 2 y 10, se extrae con acetato de etilo o diclorometano, se separa, se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se evapora y se purifica por cromatografía en gel de sílice y/o por cristalización. Valores de R_f sobre gel de sílice; eluyente: acetato de etilo/metanol 9:1.

- 40 Espectrometría de masas (MS): El (ionización por impacto de electrones) M⁺
 FAB (Fast Atom Bombardment) (M+H)⁺
 ESI (Electrospray Ionization) (M+H)⁺

APCI-MS (atmospheric pressure chemical ionization - mass spectrometry o espectrometría de masas – ionización química a presión atmosférica) (M+H)⁺.

- 45 Tiempo de retención R_t [min]: la determinación se efectúa con HPLC

Columna: Chromolith SpeedROD, 50 x 4.6 mm² (No. de encargo 1.51450.0001) de Merck

Gradiente: 5.0 min, t = 0 min, A:B = 95:5, t = 4.4 min: A:B = 25:75,

t = 4.5 min a t = 5.0 min: A:B = 0:100

Flujo: 3.00 ml/min

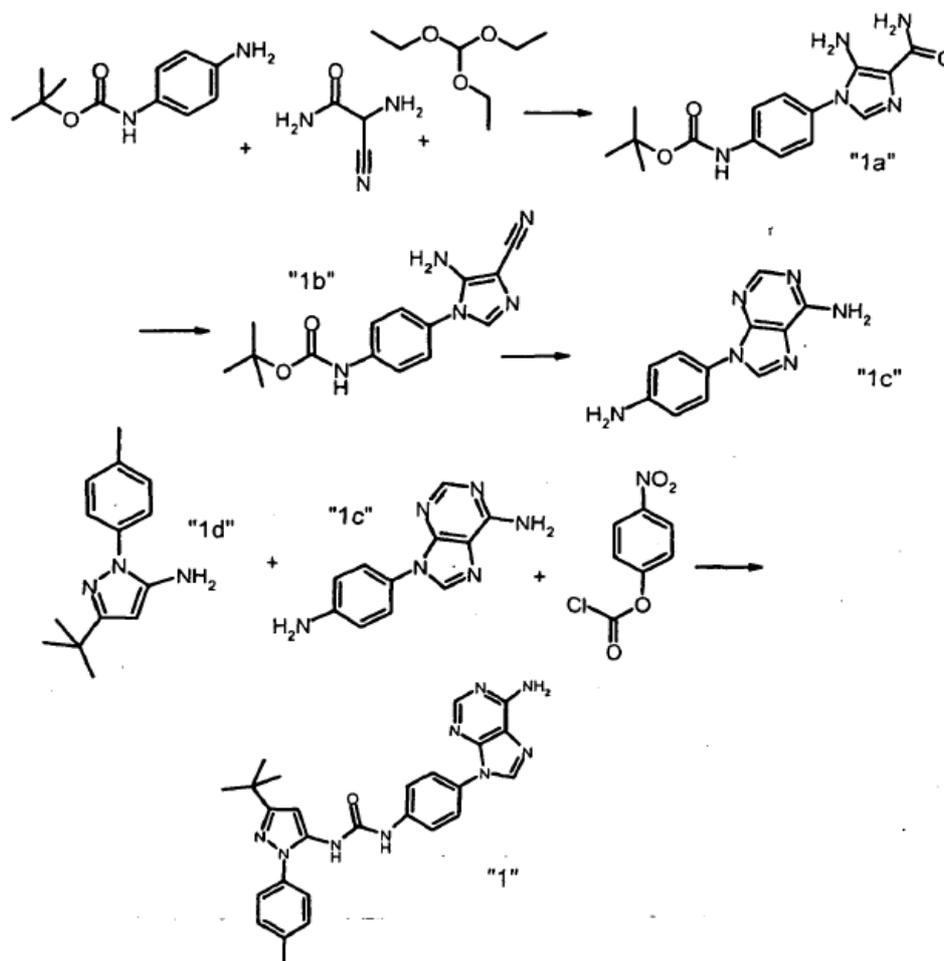
5 Eluyente A: agua + 0,1% de TFA (ácido trifluoroacético),

Eluyente B: Acetonitrilo + 0,08% de TFA

Longitud de onda: 220 nm

Ejemplo 1

10 La preparación de 1-[4-(6-amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-*ter*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-urea ("1") se efectúa de modo análogo al siguiente esquema



1.1 Preparación de [4-(5-amino-4-carbamoil-imidazol-1-il)-fenil]-carbamato de *ter*-butilo ("1a")

15 4 g de 2-aminocianoacetamida se disuelven en 100 ml de acetonitrilo. Se adicionan 9 ml de ortoacetato de trietilo y por 1 hora se calienta a reflujo. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se adicionan 10 g de N-Boc-1,4-fenilendiamina. Todo junto se calienta por una noche a reflujo. La mezcla se enfría a temperatura ambiente. El material no disuelto se filtra y se lava bien con acetonitrilo. Se obtienen 6.5 g de "1 a", [M + H⁺] 318.

1.2 Preparación de [4-(5-amino-4-cian-imidazol-1-il)-fenil]-carbamato de *ter*-butilo ("1 b")

10 g de "1a", 6 ml de cloruro de metansulfonilo y 30 ml de piridina se adicionan a 200 ml de diclorometano. Todo junto se revuelve por una noche a temperatura ambiente. Para el procesamiento se evapora en el evaporador por rotación. El residuo se toma con agua y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se seca y se evapora en el evaporador por rotación. El residuo se tritura con diclorometano y se filtra con succión. Se obtienen 6.1 g de "1 b", HPLC-APCI-MS [M + H⁺] 300.

1.3 Preparación de 9-(4-amino-fenil)-9*H*-purin-6-ilamina ("1 c")

En un matraz de tres bocas de 500 ml con agitador magnético y condensador de reflujo se suspenden 6 g de "1 b" y 8 g de acetato de formamida en 80 ml de monometiléter de etilenglicol. Todo se calienta a reflujo bajo nitrógeno por una noche. Al calentar la mezcla se vuelve transparente. La solución de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente. Después la mezcla se evapora en el evaporador de rotación. La mezcla cruda se trata por 3 horas con 60 ml de HCl de 2*n* en dioxano. La mezcla se filtra con succión y se lava bien con dioxano y éter de petróleo. Se obtienen 1.8 g de "1 c", HPLC-MS [M + H⁺] 227.

1.4 Preparación de 5-*ter*-butil-2*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-ilamina ("1d")

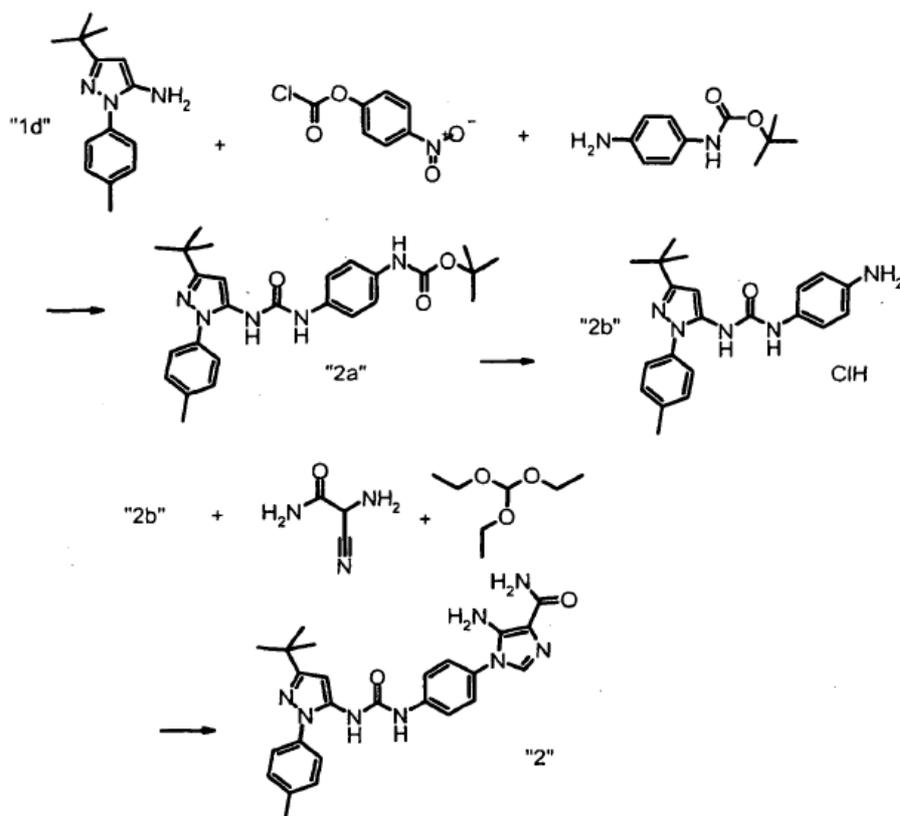
5 g de *p*-tolilhidrazina clorhidrato y 3.8 g de 4,4-dimetil-3-oxo-pentanonitrilo se disuelven en 100 ml de tolueno. Todo junto se calienta con reflujo por una noche. Para el procesamiento se saca el disolvente en el rotavapor. El residuo se mezcla con agua y luego se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra. El filtrado se evapora en el rotavapor y se cromatografía (éter de petróleo/acetato de etilo 1/1). Se obtienen 5.7 g de "1d", HPLC/MS [M + H⁺] 230.

1.5 0.4 g de "1 d" y 0.4 g de 4-nitrofenilcloroformiato se disuelven en 50 ml de diclorometano.

Se adicionan 0.3 ml de piridina. Todo se resuelve por 2 horas a temperatura ambiente. A continuación se adicionan 0.4 g de "1 c", se enjuaga con otros 20 ml de dimetilformamida y se adicionan 0.5 ml de *N*-etil-diisopropilamina. La combinación se revuelve por una noche a temperatura ambiente. Para el procesamiento la solución de reacción se evapora en el rotavapor y el residuo se mezcla con acetato de etilo y agua. Lo no disuelto se filtra y la fase acuosa se separa. La fase orgánica se lava 2x con NaOH de 1*N*, 1x con H₂O y 1x con solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ y se filtra. El filtrado se evapora en el rotavapor y se cromatografía (diclorometano/metanol 95/5). Se obtienen 357 mg de "1", HPLC-APCI-MS [M + H⁺] 482.

Ejemplo 2

La preparación de 5-amino-1-{4-[3-(5-*ter*-butil-2-*p*-tolil)-2*H*-pirazol-3-il]-ureido}-fenil}-1*H*-imidazol-4-carboxamida ("2") se efectúa de modo análogo al siguiente esquema



2.1 Preparación de {4-[3-(5-*ter.*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-ureido]-fenil}-carbamato de *ter.*-butilo ("2a")

3 g de "1 d" y 2.7 g de 4-nitrofenilcloroformiato se disuelven en 100 ml de diclorometano. Se adicionan 1.5 ml de piridina. Todo junto se revuelve por 2 horas a temperatura ambiente. A continuación se adicionan 2.7 g de N-boc-1,4-fenilendiamina, se enjuagan con otros 50 ml de diclorometano y se adicionan 5 ml de N-etildiisopropilamina. Todo junto se revuelve por una noche a temperatura ambiente. Para el procesamiento se evapora la solución de reacción en el rotavapor y el residuo se mezcla con acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lava 2x con NaOH de 1 N, 1x con H₂O y 1 x con solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ y se filtra. El filtrado se evapora en el rotavapor y se cromatografía (diclorometano/metanol 95/5). Se obtienen 3.47 g de "2a".

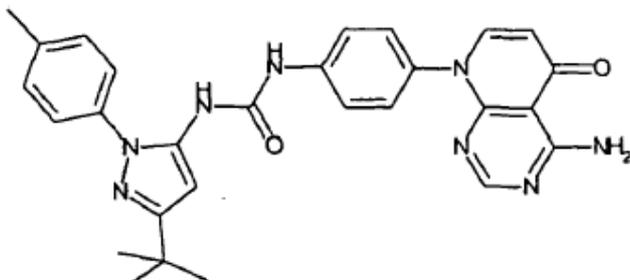
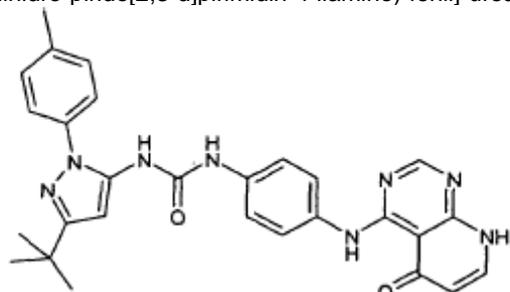
10 2.2 Preparación de 1-(4-amino-fenil)-3-(5-*ter.*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-urea clorhidrato ("2b")

3.5 g de "2a" se revuelven por 2 horas a temperatura ambiente con 80 ml de HCl de 2N en dioxano. La mezcla se filtra con succión y se lava bien con dioxano y éter de petróleo. Se obtienen 3 g de "2b".

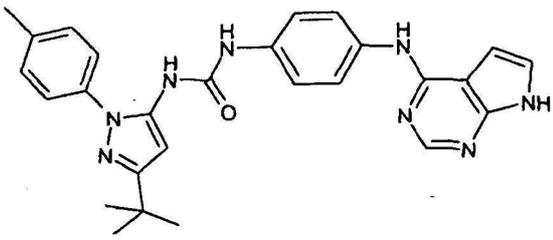
15 2.3 Se disuelven 0.2 g de 2-aminocianoacetamida en 90 ml de acetonitrilo. Se adicionan 0,4 ml de ortoacetato de trietilo y se calientan por 2 horas a reflujo. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se adiciona 1 g de "2b". Todo se calienta a reflujo por una noche. La mezcla se enfría a temperatura ambiente. El material no disuelto se filtra y se lava bien con acetonitrilo. El producto crudo se cromatografía. Se obtienen 172 mg de "2", HPLC/MS [M + H⁺] 473.

Ejemplo 3

De manera análoga al ejemplo 1 se obtienen los siguientes compuestos

No.	Nombre estructura	MW (calculado)	HPLC-APCI-MS [M+H] ⁺
"3"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea 	508	509
"4"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	562	563
"5"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea	508	509
"6"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	536	537
"7"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	512	513
"8"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	522	523
"9"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-urea	494	495
"10"	1-(5-ter.-Butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea 	508	509
"11"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	562	563
"12"	1-[5-ter.-Butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	562	563
"13"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	512	513
"14"	1-(5-ter.-Butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	494	495
"15"	1-[5-Furan-2-il-2-(4-fluorofenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	522	523
"16"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-urea	467	468
"17"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea	491	492
"18"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea	495	496
"19"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	485	486
"20"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea	499	500

(continuación)

No.	Nombre estructura	MW (calculado)	HPLC-APCI-MS [M+H] ⁺
"21"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-urea	481	482
"22"	1-(5-ter.-Butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	480	481
			
"23"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea	484	485
"26"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"27"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea		
"28"	1-(5-ter.-Butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"29"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"30"	1-(5-Furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"31"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"32"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"33"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea		
"34"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"35"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"36"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"37"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"38"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea		
"39"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"40"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea		
"41"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea		
"48"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"49"	1-[5-ter.-Butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"50"	1-(5-ter.-Butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"51"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		
"52"	1-(5-Furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea		

Ejemplo F: Grageas

De manera análoga al ejemplo E se comprimen tabletas que a continuación se recubren de manera convencional con una cobertura de sacarosa, almidón de patata, talco, goma tragacanto y colorante.

Ejemplo G: Cápsulas

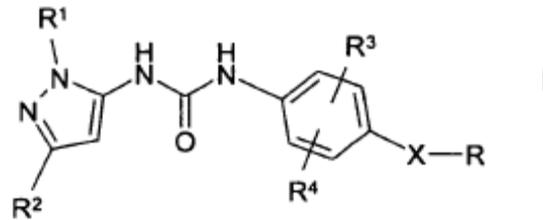
- 5 Se ponen 2 kg de principio activo de la fórmula I de manera usual en cápsulas de gelatina dura, de modo que cada cápsula contenga 20 mg del principio activo.

Ejemplo H: Ampollas

- 10 Una solución de 1 kg de principio activo de la fórmula I en 60 l de agua bidestilada se filtra de forma estéril, se transfiere a ampollas, se liofiliza en condiciones estériles y se sella de modo estéril. Cada ampolla contiene 10 mg de principio activo.

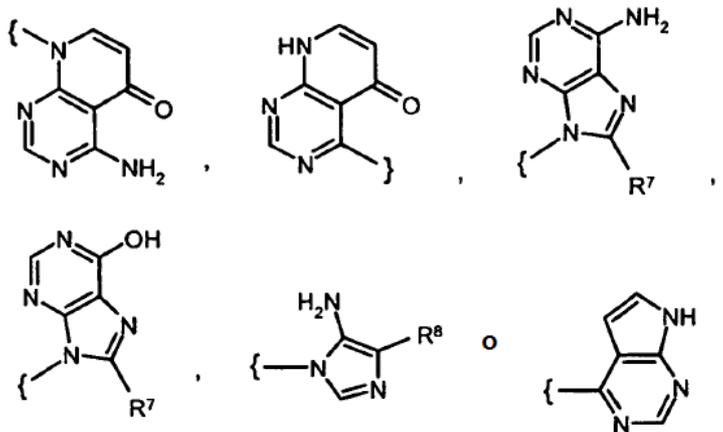
REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la fórmula I



donde

5 R significa



X está ausente o significa CH₂, NH, O o S,

R¹ significa fenilo no sustituido o mono-, bi- o trisustituido con A y/o Hal,

R² significa A, R¹ o Het¹,

10 R³, R⁴ significan respectivamente, independientemente entre sí, H, A, Hal, OH, OA o CN,

R⁵, R⁶ significan respectivamente, independientemente entre sí, H o A,

R⁷ significa H o A,

R⁸ significa H o CONH₂,

15 Het¹ significa un heterociclo monocíclico, aromático, con 1 a 4 átomos de N, O y/o S, el cual puede estar mono- o bisustituido con Hal y/o A,

A significa alquilo con 1 a 10 átomos de C, en cuyo caso 1-7 átomos de H también pueden estar reemplazados por F y/o cloro,

Hal significa F, Cl, Br o I,

20 así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

2. Compuestos según la reivindicación 1, donde

X está ausente o significa NH,

así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

3. Compuestos según la reivindicación 1 o 2, donde

5 Het¹ significa piridilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirimidinilo o imidazolilo,

así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

4. Compuestos según una o varias de las reivindicaciones 1-3, donde

10 A significa alquilo no ramificado o ramificado con 1-6 átomos de C, donde 1-5 átomos de H pueden estar reemplazados por F y/o cloro,

así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

5. Compuestos según una o varias de las reivindicaciones 1-4, donde

R³, R⁴ significan H,

15 así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

6. Compuestos según una o varias de las reivindicaciones 1-7, donde

R³, R⁴ significan H,

X está ausente o significa NH,

20 Het¹ significa piridilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirimidinilo o imidazolilo,

A significa alquilo no ramificado o ramificado con 1-6 átomos de C, donde 1-5 átomos de H pueden estar reemplazados por F y/o cloro,

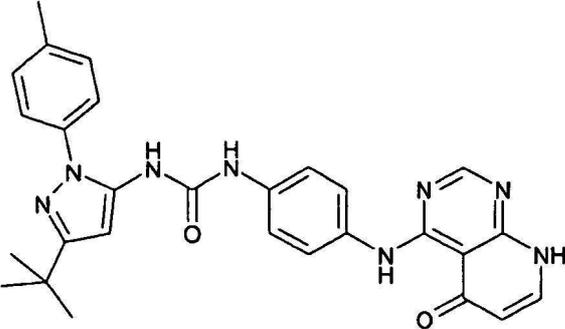
así como sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones.

25 7. Compuestos según la reivindicación 1, seleccionados del grupo

No.	Nombre
"1"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea
"2"	5-Amino-1-{4-[3-(5-ter.-butil-2-p-tolil)-2H-pirazol-3-il]-ureido}-fenil-1H-imidazol-4-carboxamida
"3"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea

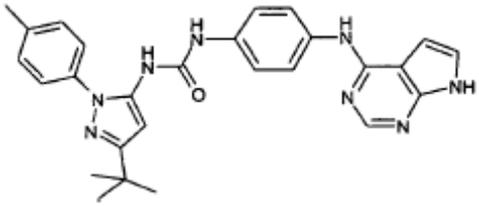
ES 2 406 737 T3

(continuación)

No.	Nombre
"4"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5- <i>ter</i> .-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"5"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5- <i>ter</i> .-butil-2- <i>m</i> -tolil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea
"6"	1-(4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil)-3-[5- <i>ter</i> .-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"7"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5- <i>ter</i> .-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"8"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"9"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5- <i>ter</i> .-butil-2-fenil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea
"10"	1-(5- <i>ter</i> .-Butil-2- <i>p</i> -tolil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea 
"11"	1-[5- <i>ter</i> .-Butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"12"	1-[5- <i>ter</i> .-Butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"13"	1-[5- <i>ter</i> .-Butil-2-(4-fluoro-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"14"	1-(5- <i>ter</i> .-Butil-2-fenil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"15"	1-[5-Furan-2-il-2-(4-fluorofenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3- <i>d</i>]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"16"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5- <i>ter</i> .-butil-2-fenil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea
"17"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2- <i>m</i> -tolil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea
"18"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5- <i>ter</i> .-butil-2- <i>p</i> -tolil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea
"19"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5- <i>ter</i> .-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"20"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5- <i>ter</i> .-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2 <i>H</i> -pirazol-3-il]-urea
"21"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5- <i>ter</i> .-butil-2-fenil-2 <i>H</i> -pirazol-3-il)-urea

ES 2 406 737 T3

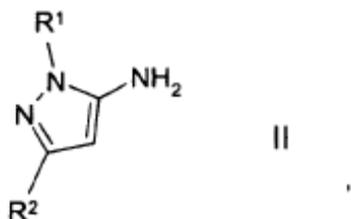
(continuación)

No.	Nombre
"22"	1-(5-ter.-Butil-2-p-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea 
"23"	1-[5-ter.-Butyl-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"24"	5-Amino-1-(4-[3-(5-ter.-butil-2-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido)-fenil]-1H-imidazol-4-carboxamida
"25"	5-Amino-1-(4-[3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido)-fenil]-1H-imidazol-4-carboxamida
"26"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"27"	1-[4-(4-Amino-5-oxo-5H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea
"28"	1-(5-ter.-Butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"29"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"30"	1-(5-Furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(5-oxo-5,8-dihidro-pirido[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"31"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"32"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"33"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea
"34"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"35"	1-[4-(6-Amino-purin-9-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"36"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"37"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"38"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea
"39"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"40"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-[5-furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-urea
"41"	1-[4-(6-Amino-8-metil-purin-9-il)-fenil]-3-(5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-urea
"42"	5-Amino-1-(4-[3-(5-ter.-butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido)-fenil]-1H-imidazol-4-carboxamida
"43"	5-Amino-1-(4-[3-[5-ter.-butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido)-fenil]-1H-imidazol-4-carboxamida
"44"	5-Amino-1-(4-[3-[5-ter.-butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il]-ureido)-fenil]-1H-imidazol-4-carboxamida

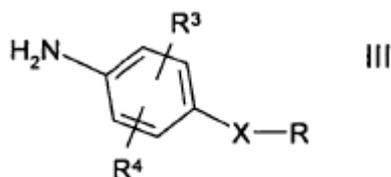
(continuación)

No.	Nombre
"45"	5-Amino-1-(4-{3-[5-ter.-butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido}-fenil)-1H-imidazol-4-carboxamida
"46"	5-Amino-1-(4-{3-[5-ter.-butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-ureido}-fenil)-1H-imidazol-4-carboxamida
"47"	5-Amino-1-(4-{3-[5-furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il]-ureido}-fenil)-1H-imidazol-4-carboxamida
"48"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"49"	1-[5-ter.-Butil-2-(3-trifluorometil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"50"	1-(5-ter.-Butil-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"51"	1-[5-ter.-Butil-2-(4-isopropil-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"52"	1-(5-Furan-2-il-2-m-tolil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"53"	1-[5-Furan-2-il-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea
"54"	1-(5-ter.-Butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-urea

- 5 **8.** Método para la preparación de compuestos de la fórmula I según las reivindicaciones 1-7 así como de sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica **caracterizados porque** se hace reaccionar un compuesto de la fórmula II



donde R¹ y R² tienen los significados indicados en la reivindicación 1,
con 4-nitrofenil-cloroformiato y con un compuesto de la fórmula III



10

donde R, X, R³ y R⁴ tienen los significados indicados en la reivindicación 1,
y/o

una base o un ácido de la fórmula I se convierte en una de sus sales.

- 15 **9.** Medicamento que contiene al menos un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1-7 y/o sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones, así como opcionalmente excipientes y/o adyuvantes.

10. Uso de compuestos según la reivindicación 1-7 así como de sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones, para la preparación de un medicamento

para el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición, la regulación y/o la modulación de la transducción de señales de quinasas desempeñan un papel.

11. Uso según la reivindicación 10, donde las quinasas se seleccionan del grupo de las tirosina-quinasas y las Raf-quinasas.
- 5 12. Uso según la reivindicación 11, donde las tirosina-quinasas son TIE-2, VEGFR, PDGFR, FGFR y/o FLT/KDR.
13. Uso según la reivindicación 11 de compuestos según las reivindicaciones 1-7, así como de sus solvatos y estereoisómeros de utilidad farmacéutica, incluidas sus mezclas en todas las proporciones, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que son influenciadas inhibiendo las tirosina-quinasas mediante los compuestos según la reivindicación 1-7.
- 10 14. Uso según la reivindicación 13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que son influenciadas inhibiendo TIE-2, VEGFR, PDGFR, FGFR y/o FLT/KDR mediante los compuestos según la reivindicación 1-7.
15. Uso según la reivindicación 13 o 14, donde la enfermedad en tratamiento es un tumor sólido.
16. Uso según la reivindicación 15, donde el tumor sólido proviene del grupo de los tumores del epitelio escamoso, de las vejigas, del estómago, de los riñones, de la cabeza y el cuello, del esófago, del cuello uterino, de la tiroides, del intestino, del hígado, del cerebro, de la próstata, del tracto urogenital, del sistema linfático, del estómago, de la laringe y/o del pulmón.
17. Uso según la reivindicación 15, donde el tumor proviene del grupo de leucemia monocítica, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastomas y carcinoma de mama.
- 20 18. Uso según la reivindicación 15, donde el tumor sólido proviene del grupo del adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastomas, carcinoma de colon y carcinoma de mama.
19. Uso según la reivindicación 13 o 14, donde la enfermedad a tratar es un tumor del sistema sanguíneo y del sistema inmunitario.
- 25 20. Uso según la reivindicación 19, donde el tumor sólido proviene del grupo de la leucemia mieloide aguda, de la leucemia mieloide crónica, de la leucemia linfática aguda, de la leucemia linfática crónica.
21. Uso según la reivindicación 13 o 14 para el tratamiento de una enfermedad en la que está involucrada la angiogénesis.
22. Uso según la reivindicación 13, donde la enfermedad en una oftalmopatía.
- 30 23. Uso según la reivindicación 13 o 14 para el tratamiento de vascularización de retina, retinopatía diabética, degeneración de mácula asociada a la edad y/o enfermedades inflamatorias.
24. Uso según la reivindicación 23, donde la enfermedad inflamatoria proviene del grupo de artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto y tipo tardío de la reacción de hipersensibilidad.
- 35 25. Uso según la reivindicación 13 o 14 para el tratamiento de osteopatías, donde la osteopatía proviene del grupo de osteosarcoma, osteoartritis y raquitismo.
26. Uso de compuestos de la fórmula I según las reivindicaciones 1-7 y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores sólidos, donde se administra una cantidad con efecto terapéutico de un compuesto de la fórmula I en combinación con un compuesto del grupo de 1) modulador de receptor de estrógeno, 2) modulador de receptor de andrógeno, 3) modulador de receptor de retinoide, 4) agente citotóxico, 5) agente antiproliferativo, 6) inhibidor de prenil-proteína-transferasa, 7) inhibidor de HMG-CoA-reductasa, 8) inhibidor de HIV-proteasa, 9) inhibidor de transcriptasa inversa así como 10) otros inhibidores de angiogénesis.
- 40 27. Uso de compuestos de la fórmula I según las reivindicaciones 1-7 y/o de sus sales y solvatos fisiológicamente inocuos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores sólidos, en cuyo caso se administra una cantidad con efecto terapéutico de un compuesto de la fórmula I en combinación con radioterapia y un compuesto del grupo de 1) modulador de receptor de estrógeno, 2) modulador de receptor de andrógeno, 3)
- 45

modulador de receptor de retinoide, 4) agente citotóxico, 5) agente antiproliferativo, 6) inhibidor de prenil-proteína-transferasa, 7) inhibidor de HMG-CoA-reductasa, 8) inhibidor de HIV-proteasa, 9) inhibidor de transcriptasa inversa así como 10) otros inhibidores de angiogénesis

- 5 **28.** Uso según la reivindicación 13 o 14, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que se basan en una actividad perturbada de TIE-2, en cuyo caso se administra una cantidad con efecto terapéutico de un compuesto según la reivindicación 1-7 en combinación con un inhibidor de receptor de factor de crecimiento.
- 29.** Uso según la reivindicación 13 de compuestos de la fórmula I para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades que son causadas, mediadas y/o propagadas por Raf-quinasas.
- 10 **30.** Uso según la reivindicación 29, en cuyo caso la Raf-quinasa se selecciona del grupo que se compone de A-Raf, B-Raf y Raf-1.
- 31.** Uso según la reivindicación 29, en cuyo caso las enfermedades se seleccionan del grupo de las enfermedades hiperproliferativas y no hiperproliferativas.
- 32.** Uso según la reivindicación 29 o 31, en cuyo caso la enfermedad es cáncer.
- 15 **33.** Uso según la reivindicación 29 o 31, en cuyo caso la enfermedad no es cancerosa.
- 34.** Uso según la reivindicación 29, 30 o 33, en cuyo caso las enfermedades no cancerosas se seleccionan del grupo que se compone de psoriasis, artritis, inflamaciones, endometriosis, formación de cicatrices, hiperplasia benigna de próstata, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades de inmunodeficiencia.
- 20 **35.** Uso según una de las reivindicaciones 29, 30 o 32 en cuyo caso las enfermedades se seleccionan del grupo que se compone de cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer de epitelio escamoso, cáncer de vejigas, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de riñones, cáncer de colorrectal, cáncer de mama, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, cáncer de esófago, cáncer ginecológico, cáncer de tiroides, linfoma, leucemia crónica y leucemia aguda.