

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 469 367**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2011** **E 11701856 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014** **EP 2531502**

54 Título: **1-(5-Terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[2-fluoro-4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-fenil]-urea y compuestos relacionados y su uso en terapia**

30 Prioridad:

01.02.2010 US 300085 P

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

18.06.2014

73 Titular/es:

**CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LIMITED
(50.0%)**

**Angel Building 407 St John Street
London EC1V 4AD, GB y**

**THE INSTITUTE OF CANCER RESEARCH: ROYAL
CANCER HOSPITAL (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SPRINGER, CAROLINE;
NICULESCU-DUVAZ, ION;
MARAI, RICHARD;
NICULESCU-DUVAZ, DAN;
ZAMBON, ALFONSO y
MENARD, DELPHINE**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 469 367 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

1-(5-Terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[2-fluoro-4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-fenil]-urea y compuestos relacionados y su uso en terapia

Solicitud relacionada

La presente solicitud está relacionada con la solicitud de patente de Estados Unidos número 61/300.085 presentada el 1 de febrero de 2010.

Campo técnico

La presente invención se refiere, en líneas generales, al campo de compuestos terapéuticos, y más específicamente, a determinados compuestos (por comodidad, denominados conjuntamente en el presente documento "compuestos IP"), que, entre otras cosas, son útiles en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, cáncer caracterizado por (por ejemplo, dirigido por) RAS mutante ("cáncer RAS mutante"). La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y al uso de dichos compuestos y composiciones en el tratamiento del cáncer, por ejemplo cáncer RAS mutante.

Antecedentes

En el presente documento se citan diversas patentes de publicaciones para describir y presentar más a fondo la invención y el estado de la técnica al cual pertenece la misma.

A lo largo de esta memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones indicadas más adelante, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprende", y variaciones tales como "que comprende" y "comprendiendo", implica la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicados pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Debe observarse que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno", "una", "el" y "la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto dictamine claramente otra cosa. Por tanto, por ejemplo, la referencia a un "vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de dichos vehículos, y similar.

En el presente documento, los intervalos a menudo se expresan como de "aproximadamente" un valor particular y/o a "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa dicho intervalo, otra realización incluye desde un valor particular y/o al otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso de la palabra precedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular forma otra realización.

La presente descripción incluye información que puede ser útil en el entendimiento de la presente invención. No es una admisión que cualquier información proporcionada en el presente documento sea técnica anterior o relevante con respecto a la invención actualmente reivindicada, o que cualquier publicación específica o implícitamente citada sea técnica anterior.

Cáncer y RAS

Las proteínas RAS son pequeñas proteínas que se unen al nucleótido guanina que están secuencia abajo de receptores de factores de crecimiento, citocinas y hormonas. Estos receptores de superficie celular activan proteínas denominadas factores intercambiadores de nucleótido de guanina (GNEF), que reemplazan GDP por GTP en proteínas RAS, estimulando la activación RAS. Otras proteínas, denominadas proteínas activadoras de GTPasa (GAP), estimulan la actividad GTPasa intrínseca de RAS, promoviendo de este modo la hidrólisis de GTP y restituyendo a RAS a su estado inactivo unido a GDP. RAS activado se une a diversas proteínas efectoras, que incluyen la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), la familia RAF de proteína quinasas y el factor intercambiador de nucleótido de guanina Ral. Estos efectores a su vez regulan la actividad de las rutas de señalización que controlan la proliferación, senescencia, supervivencia y diferenciación celular. Existen tres genes RAS en mamíferos denominados *HRAS*, *KRAS* y *NRAS* y realizan funciones solapantes pero no conservadas.

Las proteínas RAS son también importantes en el cáncer. Un 20-30 % de los tumores humanos llevan mutaciones somáticas con ganancia de función en uno de los genes RAS. Más habitualmente esto implica los codones para glicina 12 (G12), glicina 13 (G13) y glutamina 61 (Q61) y estas mutaciones deterioran, a través de mecanismos diferentes, la actividad GTPasa intrínseca de RAS estimulada por GAP, reteniéndola en el estado activo unida a GTP y permitiéndola promover la tumorigénesis. Véase, por ejemplo Downward, 2003; Young *et al.*, 2009; y Bos, 1989.

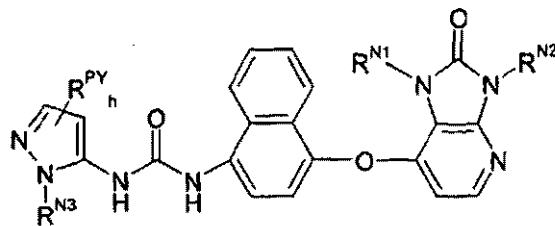
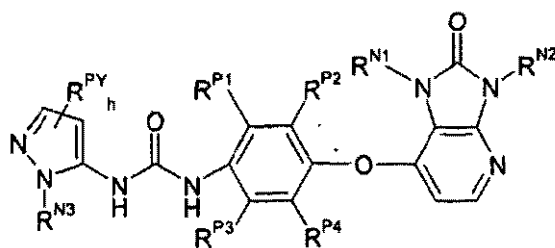
Tabla 1 Frecuencia de Mutaciones RAS en Diferentes Tipos de Cánceres	
Tipo de Tumor	Frecuencia
Pancreático	90 %
Tiroideo (papilar indiferenciado)	60 %
Tiroideo (Folicular)	55 %
Colorrectal	45 %
Seminoma	45 %
Síndrome mielodisplásico (SMD)	40 %
Adenocarcinoma pulmonar (no microcítico)	35 %
Hígado	30 %
Leucemia mielogena aguda (LMA)	30 %
Melanoma	15 %
Vejiga urinaria	10 %
Riñón	10 %

RAS y BRAF

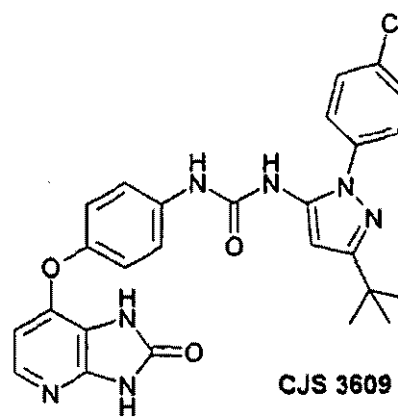
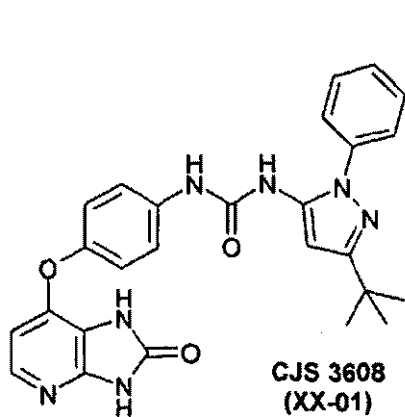
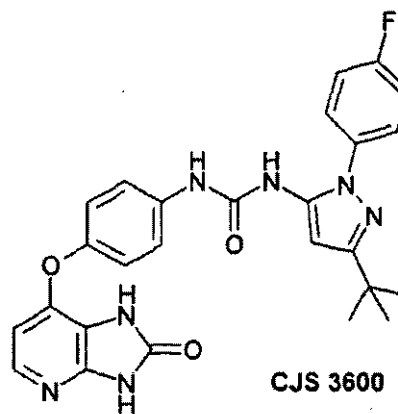
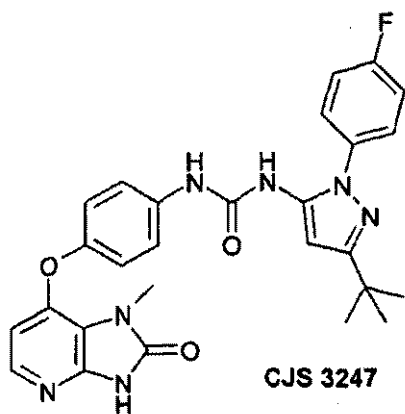
- 5 Las proteínas RAS activas activan diversos efectores secuencia abajo, incluyendo las proteínas de la familia RAF. Hay tres proteínas RAF, ARAF, BRAF y CRAF. La proteína RAF activada fosforila y activa una segunda proteína quinasa denominada MEK, que después fosforila y activa una tercera proteína quinasa denominada ERK. ERK fosforila una multitud de sustratos citosólicos y nucleares, regulando de este modo procesos celulares tales como proliferación, supervivencia, diferenciación y senescencia.
- 10 La proteína BRAF es importante en cáncer, porque está mutada en aproximadamente el 2 % de los cánceres humanos, particularmente en melanoma (43 % de casos), cáncer tiroideo (45 %), cáncer de ovario (10 %) y cáncer colorrectal (13 %). Por otro lado, en el cáncer humano son muy raras las mutaciones ARAF y CRAF. Sin embargo, especialmente en células cancerosas, el RAS oncogénico no señala a través de BRAF, sino que en cambio
- 15 señala exclusivamente a través de CRAF para activar MEK.
- Se han descrito más de 100 mutaciones diferentes en BRAF en cáncer, pero una sola mutación (una sustitución de ácido glutámico por valina en la posición 600) representa aproximadamente el 90 % de las mutaciones que se producen. Este mutante activa 500 veces BRAF y permite que estimule la señalización constitutiva de ERK y NFkB,
- 20 estimulando la supervivencia y proliferación. Por consiguiente, ^{V600E}BRAF puede transformar células, tales como fibroblastos y melanocitos. La inhibición de ^{V600E}BRAF en células cancerosas inhibe la proliferación celular e induce apoptosis *in vitro*, e *in vivo* suprime el crecimiento de células tumorales, validando a ^{V600E}BRAF como un agente terapéutico.
- 25 En la inmensa mayoría de cánceres, las mutaciones BRAF y RAS son mutuamente exclusivas. Esto proporciona pruebas genéticas que sugieren que estas proteínas están en la misma ruta y que dirigen los mismos procesos en células cancerosas. Sin embargo, existen claras diferencias entre las funciones de BRAF oncogénico y RAS oncogénico en células cancerosas. En primer lugar, RAS activa diversas rutas, mientras que se sabe que BRAF solo activa la ruta MEK/ERK. Como consecuencia, las células mutantes BRAF son más dependientes de la señalización
- 30 MEK/ERK y por eso son considerablemente más sensibles a inhibidores de BRAF o MEK; en comparación con células en las que está mutado RAS. Véase, por ejemplo, Garnett *et al.*, 2004; Wellbrock *et al.*, 2004; Gray-Schopfer *et al.*, 2007; Solit *et al.*, 2006.

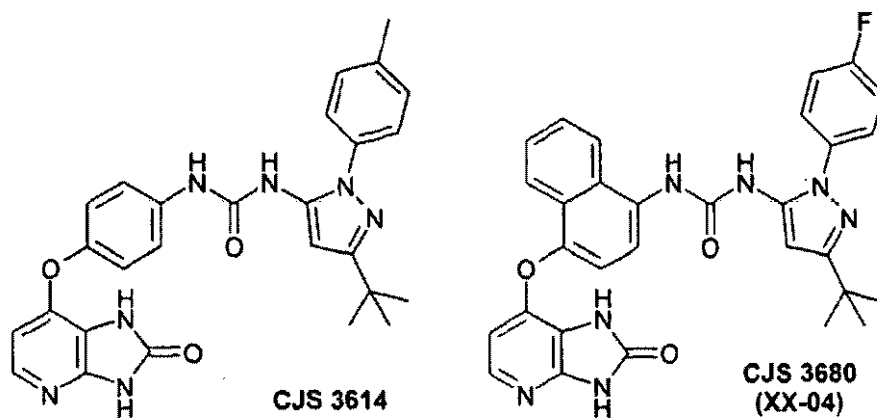
Compuestos relacionados

- 35 Niculescu-Duvaz *et al.*, 2006 (documento WO 2006/043090 A1), describen las siguientes clases de compuestos en las páginas 41 y 43 del mismo. Los compuestos se describen como inhibidores de BRAF útiles para el tratamiento del cáncer, especialmente cáncer BRAF mutante.



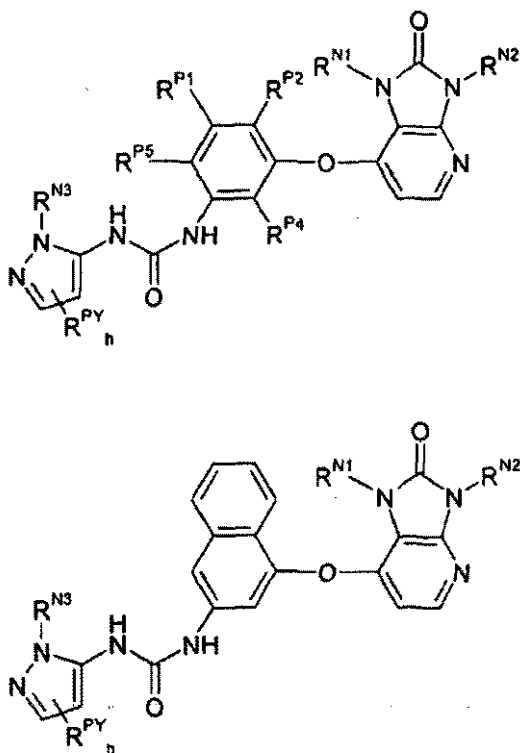
Además, Niculescu-Duvaz *et al.*, 2006 proporcionan los siguientes ejemplos:



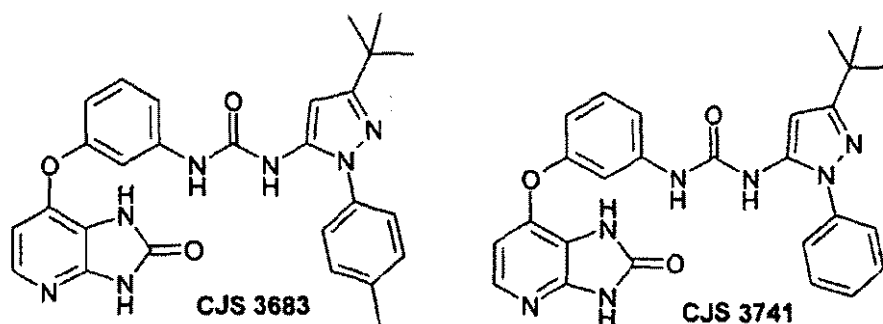


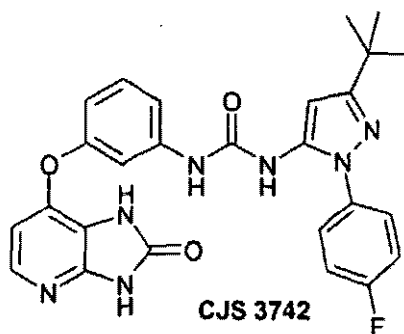
Niculescu-Duvaz *et al.*, 2007 (documento WO 2007/125330 A1), describen las siguientes clases de compuestos en las páginas 57 y 58 del mismo. Los compuestos se describen como inhibidores de BRAF útiles para el tratamiento del cáncer, especialmente cáncer BRAF mutante.

5



Además, Niculescu-Duvaz *et al.*, 2007 proporcionan los siguientes compuestos:





La presente invención proporciona compuestos alternativos, que se caracterizan por una combinación particular de motivos estructurales, y que proporcionan actividad sorprendente e inesperada (por ejemplo, actividad contra cánceres RAS mutantes), por ejemplo, en comparación con uno o más de los compuestos conocidos estructuralmente relacionados.

Aunque se conocen compuestos estructuralmente relacionados como inhibidores de BRAF, no se habría previsto que los compuestos reivindicados fuesen activos contra cánceres RAS mutantes.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la estructura química de diversos compuestos de la presente invención: AA-01, AA-02, AA-03, y AA-04.

La Figura 2 muestra la estructura química de diversos compuestos de la presente invención: BB-01 y BB-02.

La Figura 3 muestra la estructura química de diversos compuestos de comparación: XX-01, XX-02, XX-03, y XX-04.

La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} (Inhibición de Crecimiento medio) de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto AA-01. La serie de líneas celulares es (a) un panel de líneas celulares BRAF mutantes (mutBRAF): WM266.4, A375M, UACC62; (b) un panel de líneas celulares RAS mutantes (mutRAS): SW620, HCT116, y WM1361; y (c) un panel de líneas celulares BRAF y RAS de tipo silvestre (wtBRAFT/RAS): SKMEL23, KM12, y BT474.

La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto BB-01. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto BB-02. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-01. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-02. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-03. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-04. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 11 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto AA-01 y para controles.

La Figura 12 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto BB-02 y para controles.

5 La Figura 13 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto AA-01 y para controles.

La Figura 14 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto BB-02 y para controles.

10 La Figura 15 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-01 y para controles.

La Figura 16 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-02 y para controles.

15 La Figura 17 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-03 y para controles.

20 La Figura 18 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-04 y para controles.

La Figura 19 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-02 y para controles.

25 **Sumario de la invención**

Un aspecto de la invención se refiere a determinados compuestos (por comodidad, denominados conjuntamente en el presente documento "compuestos IP"), como se describe en el presente documento.

30 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto IP, como se describe en el presente documento, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

35 Otro aspecto de la invención se refiere a métodos de preparación de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende la etapa de mezclar un compuesto IP, como se describe en el presente documento, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto IP, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento por terapia en el organismo de un ser humano o de un animal.

40 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto IP, como se describe en el presente documento, en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento.

En una realización, el tratamiento es tratamiento del cáncer.

45 En una realización, el cáncer es cáncer tumoral sólido.

En una realización, el cáncer es cáncer pancreático, cáncer tiroideo (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado), cáncer colorrectal; seminoma; síndrome mielodisplásico (SMD); cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado; leucemia (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma; cáncer de vejiga; cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer de conducto biliar o glioma.

En una realización, el cáncer es cáncer pancreático.

En una realización, el cáncer es cáncer tiroideo.

55 En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal.

En una realización, el cáncer es seminoma.

En una realización, el cáncer es síndrome mielodisplásico (SMD).

En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón.

En una realización, el cáncer es adenocarcinoma pulmonar.

60 En una realización, el cáncer es cáncer de hígado.

En una realización, el cáncer es leucemia.

En una realización, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA).

En una realización, el cáncer es melanoma.

En una realización, el cáncer es cáncer de vejiga.

65 En una realización, el cáncer es cáncer de riñón.

En una realización, el cáncer es cáncer de mama.

En una realización, el cáncer es cáncer de ovario.
En una realización, el cáncer es cáncer de conducto biliar.
En una realización, el cáncer es glioma.

5 En una realización, el cáncer es cáncer RAS mutante (por ejemplo, cáncer pancreático RAS mutante, etc.).

En una realización, el cáncer se caracteriza por, o también se caracteriza por, células madre cancerosas.

10 En una realización, el tratamiento también comprende tratamiento con uno o más agentes terapéuticos o terapias adicionales, por ejemplo, uno o más agentes o terapias contra el cáncer

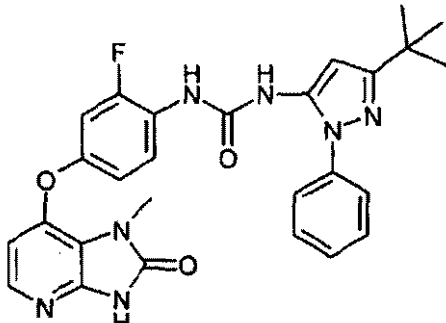
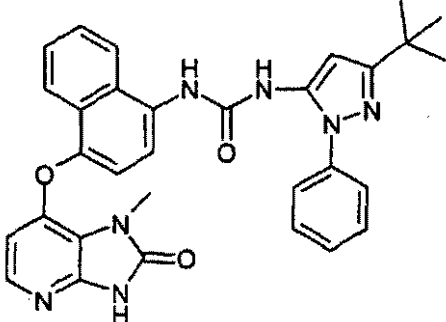
También se describe en el presente documento un kit que comprende (a) un compuesto IP, como se describe en el presente documento, proporcionado preferentemente como una composición farmacéutica y en un recipiente adecuado y/o con un envasado adecuado; y (b) instrucciones para su uso, por ejemplo, instrucciones por escrito sobre cómo administrar el compuesto.

15 Como apreciará un experto en la técnica, otro aspecto de la invención también se referirá a características y realizaciones preferidas de un aspecto de la invención.

20 Descripción detallada de la invención

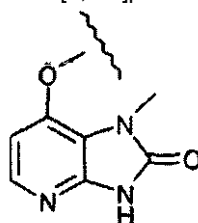
Compuestos

25 La presente invención se refiere a determinados compuestos que están estructuralmente relacionados con los siguientes compuestos:

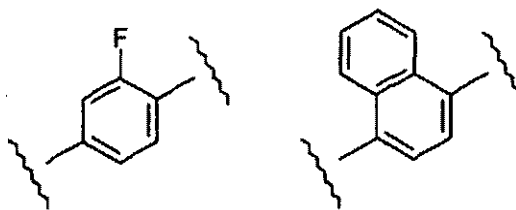
	1-(5-terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[2-fluoro-4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-fenil]-urea
	1-(5-terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-naftalen-1-il]-urea

A diferencia de los compuestos conocidos, los compuestos de la presente invención se caracterizan por una combinación particular de motivos estructurales, específicamente:

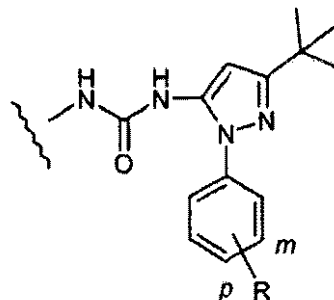
30 (A) un motivo 1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi:



(B) un resto de unión 2-fluoro-fen-1,4-di-ilo o un motivo de unión naft-1,4-di-ilo:

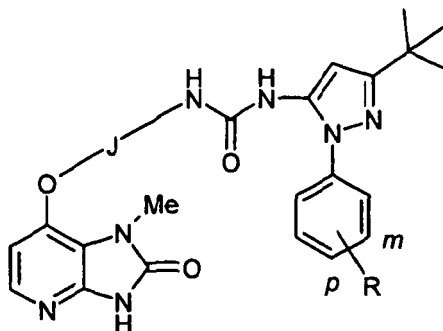


(C) un motivo 1-(5-terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-ureilo, en el que el grupo fenilo lleva opcionalmente un meta o para sustituyente:

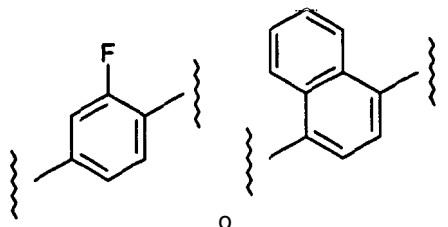


Ninguno de los compuestos conocidos tiene todos estos tres motivos. Adicionalmente, estudios de comparación con compuestos (incluyendo compuestos conocidos) demuestran que, de manera sorprendente e inesperada, los compuestos que tienen estos tres motivos (es decir, los compuestos reivindicados) tienen sustancialmente mejor actividad contra cánceres RAS mutantes, que los compuestos de comparación que carecen de uno o más de estos motivos.

Por tanto, un aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos de los mismos, farmacéuticamente aceptables (denominados conjuntamente en el presente documento "compuestos IP"):

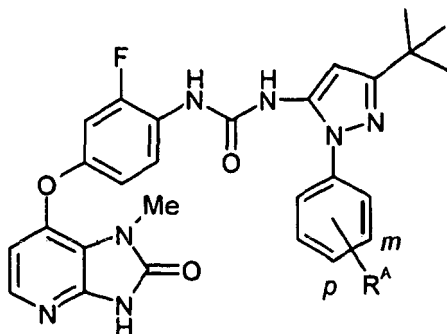


en la que -J- es independientemente:

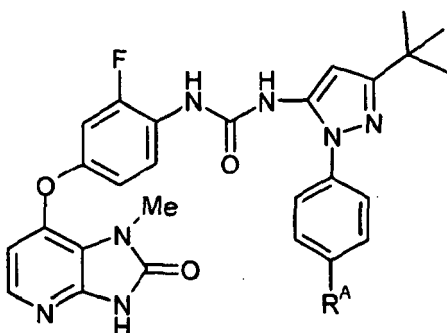


y en la que -R es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I;
y en la que -R se sitúa meta- o para- en el anillo fenilo.

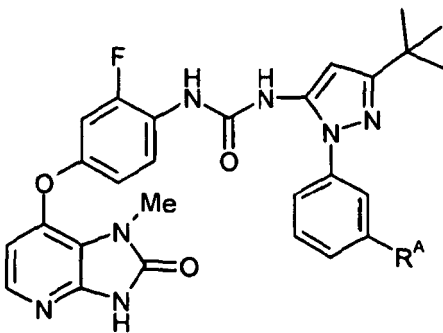
En una realización, el compuesto se selecciona entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I, y en la que -R^A se sitúa meta- o para- en el anillo fenilo:



En una realización, el compuesto se selecciona entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I:

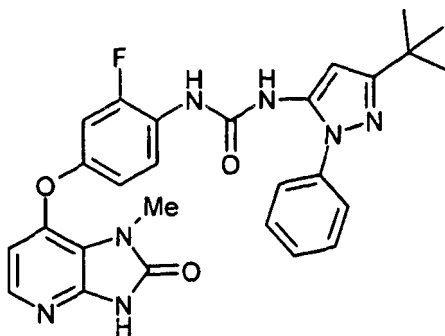


- 5 En una realización, el compuesto se selecciona entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I:

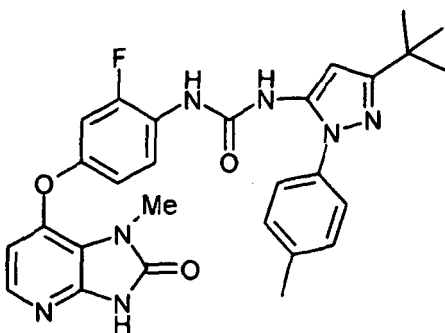


- 10 En una realización, -R^A es independientemente -H, -Me, -F o -Cl.
 En una realización, -R^A es independientemente -H o -Me.
 En una realización, -R^A es independientemente -H.
 En una realización, -R^A es independientemente -Me.
 En una realización, -R^A es independientemente -F o -Cl.
 15 En una realización, -R^A es independientemente -F.
 En una realización, -R^A es independientemente -Cl.

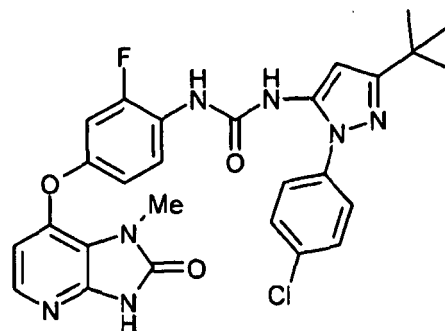
En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, AA-01), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



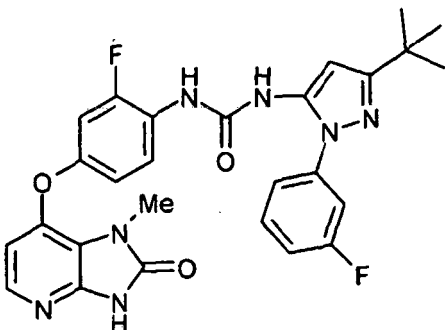
En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, AA-02), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



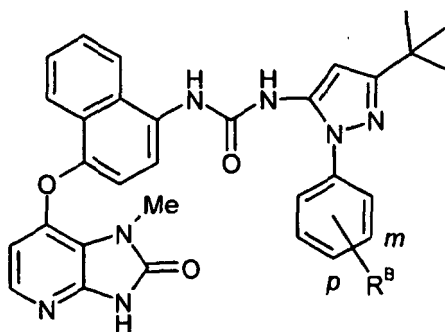
- 5 En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, AA-03), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



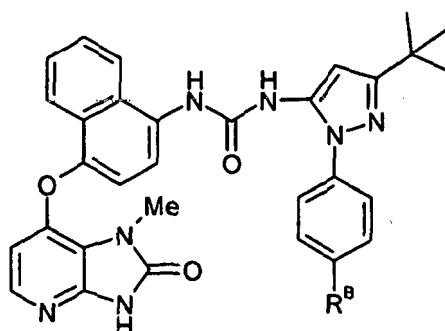
En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, AA-04), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



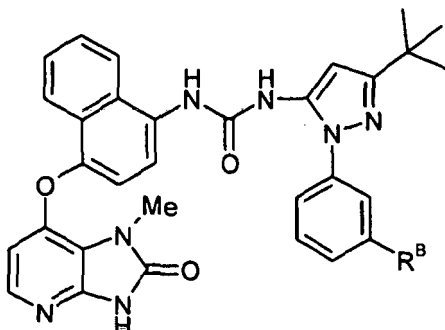
- 10 En una realización, el compuesto se selecciona entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que $-R^B$ es independientemente $-H$, $-Me$, $-F$, $-Cl$, $-Br$ o $-I$, y en la que $-R^B$ se sitúa meta- o para- en el anillo fenilo:



En una realización, el compuesto se selecciona entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que $-R^B$ es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I:

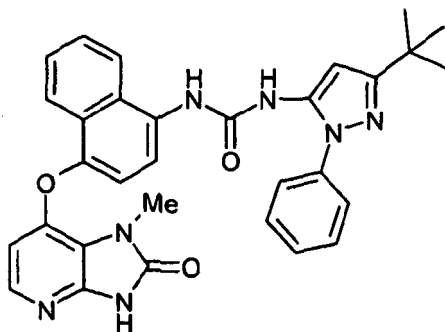


- 5 y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que $-R^B$ es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I:

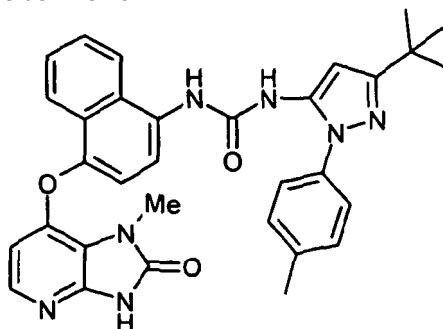


- 10 En una realización, $-R^B$ es independientemente -H, -Me, -F o -Cl.
 En una realización, $-R^B$ es independientemente -H o -Me.
 En una realización, $-R^B$ es independientemente -H.
 En una realización, $-R^B$ es independientemente -Me.
 En una realización, $-R^B$ es independientemente -F o -Cl.
 15 En una realización, $-R^B$ es independientemente -F.
 En una realización, $-R^B$ es independientemente -Cl.

En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, BB-01), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



En una realización, el compuesto se selecciona entre el siguiente compuesto (es decir, BB-02), y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



5

Combinaciones

También se aprecia que ciertas características de la invención que, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas también puedan proporcionarse en combinación en una única realización. En cambio, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una única realización también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones referentes a los grupos químicos representados por las variables (por ejemplo -J-, -R, -R_A, -R_B, etc.) se incluyen específicamente por la presente invención y se desvelan en este documento como si cada una y cada combinación se desvelaran individual y explícitamente, hasta el punto de que tales combinaciones incluyen compuestos que son compuestos estables (es decir, compuestos que pueden aislarse, caracterizarse y probarse para actividad biológica). Además, todas las subcombinaciones de los grupos químicos enumerados en las realizaciones que describen tales variables, también se incluyen específicamente por la presente invención y se desvelan en este documento como si cada una y cada dicha subcombinación de grupos químicos se desvelaran explícitamente en este documento.

20

Formas Sustancialmente Purificadas

Un aspecto de la presente invención pertenece a compuestos IP, como se describe en este documento, en una forma sustancialmente purificada y/o en una forma sustancialmente libre de contaminantes.

25

En una realización, el compuesto está en una forma sustancialmente purificada y/o en una forma sustancialmente libre de contaminantes.

En una realización, el compuesto está en una forma sustancialmente purificada con una pureza de al menos el 50 % en peso, por ejemplo, al menos el 60 % en peso, por ejemplo, al menos el 70 % en peso, por ejemplo, al menos el 80 % en peso, por ejemplo, al menos el 90 % en peso, por ejemplo, al menos el 95 % en peso, por ejemplo, al menos el 97 % en peso, por ejemplo, al menos el 98 % en peso, por ejemplo, al menos el 99 % en peso.

30

A menos que se especifica, la forma sustancialmente purificada se refiere al compuesto en cualquier forma estereoisomérica. Por ejemplo, en una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla de estereoisómeros, es decir, purificada con respecto a otros compuestos. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a un estereoisómero.

35

En una realización, el compuesto esta en una forma sustancialmente libre de contaminantes en la que los contaminantes representan no más del 50 % en peso, por ejemplo, no más del 40 % en peso, por ejemplo, no más del 30 % en peso, por ejemplo, no más del 20 % en peso, por ejemplo, no más del 10 % en peso, por ejemplo, no más del 5 % en peso, por ejemplo, no más del 3 % en peso, por ejemplo, no más del 2 % en peso, por ejemplo, no

40

más del 1 % en peso. A menos que se especifique, los contaminantes se refieren a otros compuestos, es decir, distintos de los estereoisómeros. En una realización, los contaminantes se refieren a otros compuestos y otros estereoisómeros.

5 Isómeros

Ciertos compuestos pueden existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas, epiméricas, atrópicas, estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales o anoméricas particulares, incluyendo, pero sin limitación, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t y r, formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas d y l; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas syn y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas α y β ; formas axiales y ecuatoriales; formas de barco, silla, giro, sobre y mediasilla; y combinaciones de las mismas, denominadas colectivamente en lo sucesivo en este documento como "isómeros" (o "formas isoméricas").

Cabe señalar que se excluyen específicamente del término "isómeros", como se usa en este documento, los isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, isómeros que difieren en las conexiones entre átomos en lugar de simplemente por la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, una referencia a un grupo terc-butilo, $-C(CH_3)_3$, no se interpretará como una referencia a su isómero estructural, iso-butilo, $-CH_2CH(CH_3)_2$. De forma análoga, una referencia a para-clorofenilo no se interpretará como una referencia a su isómero estructural, meta-clorofenilo.

Cabe señalar que se incluyen específicamente en el término "isómero" compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo 1H , 2H (D) y 3H (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C ; O puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{16}O y ^{18}O ; y similares.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular incluye todas estas formas isoméricas, incluyendo mezclas de las mismas.

Sales

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar una sal correspondiente del compuesto, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Se analizan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge y col., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, págs. 1-19.

Por ejemplo, si el compuesto es catiónico, o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, $-NH_2^+$), entonces puede formarse una sal con un anión adecuado. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso.

Los ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetoxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canforsulfónico, cinnámico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fumárico, glucheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, hidroxinaftaleno carboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, metanosulfónico, mícico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico y valérico.

Los ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos poliméricos: ácido tánico, carboximetil celulosa.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular también incluye formas salinas del mismo.

Hidratos y Solvatos

Puede ser conveniente o deseable para preparar, purificar y/o manipular un solvato correspondiente del compuesto. El término "solvato" se usa en este documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto, sal de compuesto) y un disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato puede denominarse convenientemente como un hidrato, por ejemplo, un mono-hidrato, un di-hidrato, un tri-hidrato, etc.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular también incluye formas solvato e hidrato del mismo.

Síntesis Química

En este documento se describen procedimientos para la síntesis química de compuestos de la presente invención. Estos y/o otros procedimientos ya conocidos pueden modificarse y/o adaptarse de formas conocidas para facilitar la

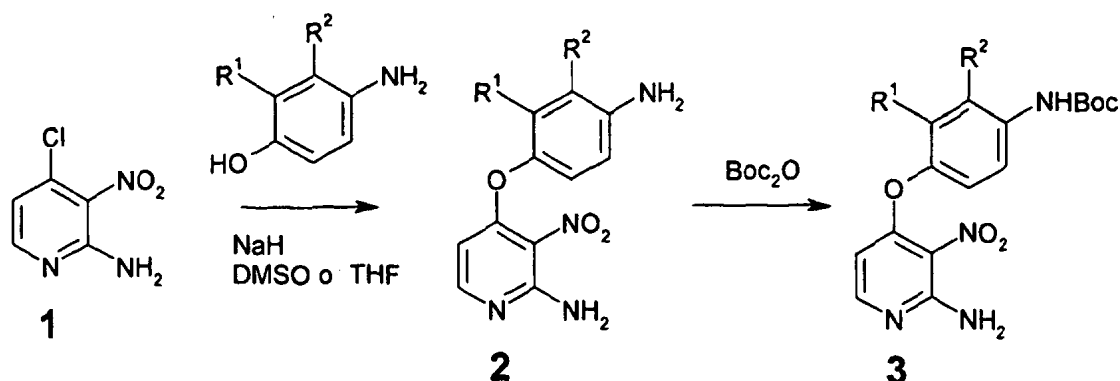
síntesis de compuestos adicionales dentro del alcance de la presente invención.

Se proporcionan descripciones de métodos y procedimientos de laboratorio generales, útiles para la preparación de los compuestos descritos en este documento, en Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5ª Edición, 1989, (Editores: Furniss, Hannaford, Smith y Tatchell) (publicado por Longmann, Reino Unido).

Se describen procedimientos para la síntesis de compuestos de piridina en particular en Heterocyclic Chemistry, 3ª Edición, 1998, (Editores: Joule, Mills y Smith) (publicado por Chapman & Hall, Reino Unido).

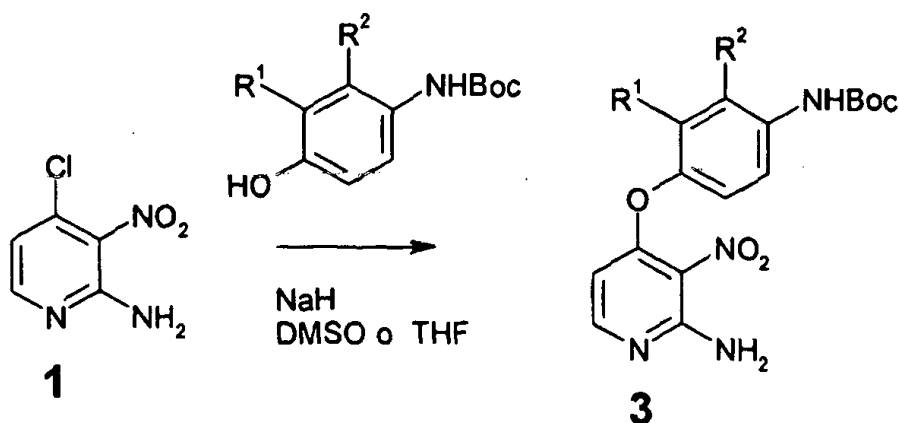
Los compuestos IP descritos en este documento pueden prepararse a través de los intermedios (2). Estos intermedios pueden prepararse a partir de un material de partida disponible en el mercado, 2-amino-3-nitro-4-cloropiridina (1), y 3-fluoro-4-aminofenol (R^1 es -H y R^2 es -F) o 4-amino-1-naftol (R^1 y R^2 juntos son -CH=CH-). Después, los intermedios (2) se protegen selectivamente en el grupo amino, por ejemplo como un BOC, para proporcionar los intermedios (3).

Esquema 1

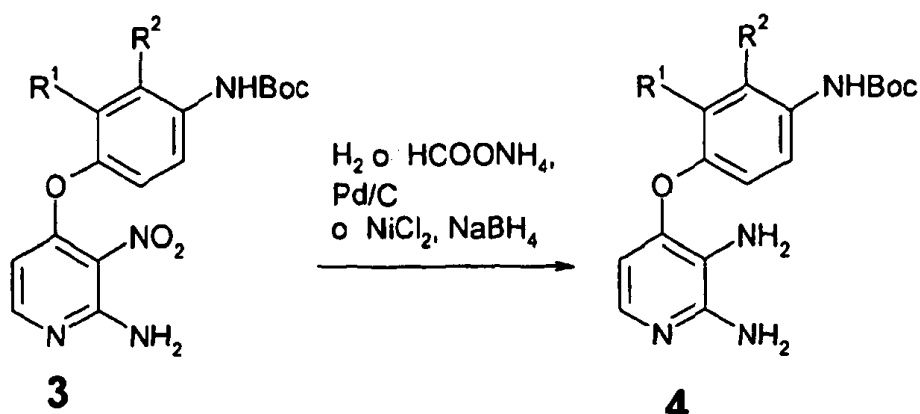


Los intermedios (3) también pueden obtenerse directamente a partir de 2-amino-3-nitro-4-cloropiridina (1) y 3-fluoro-4-aminofenol N-BOC-protegido o 4-amino-1-naftol N-BOC-protegido.

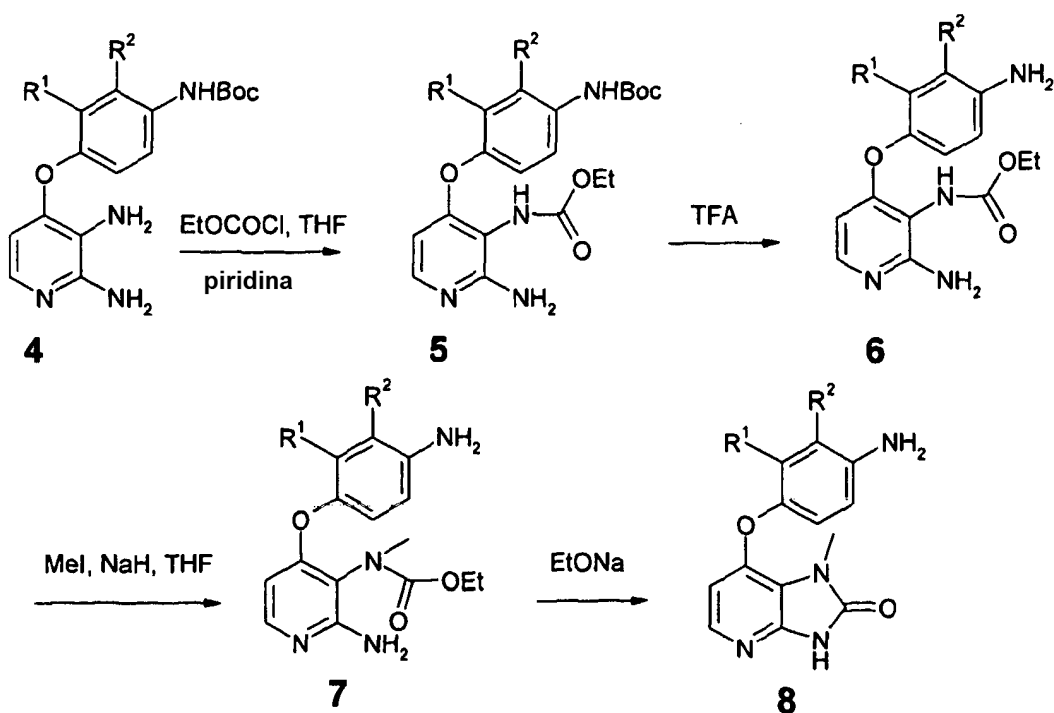
Esquema 2



El grupo nitro de los intermedios protegidos (3) puede reducirse a un grupo amino con Pd/C y formiato amónico o hidrógeno, o con NiCl_2 y NaBH_4 , para dar los intermedios diamino (4).

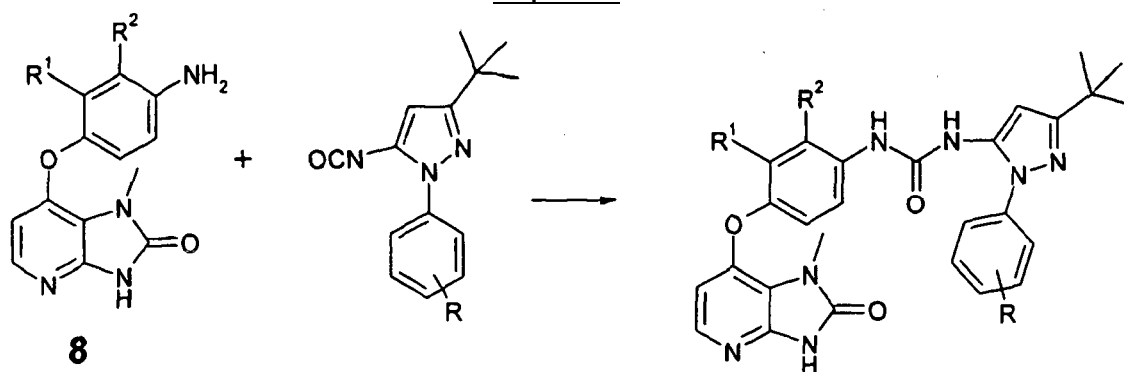
Esquema 3

Los intermedios (8), alquilados en N3 (con respecto al anillo de piridina), pueden prepararse a partir de los intermedios (4). El grupo 3-amino más nucleófilo en los intermedios (4) se convierte en carbamato de etilo, para proporcionar los intermedios (5), y el grupo BOC se retira con TFA para proporcionar los intermedios (6). La desprotonación del protón de carbamato ácido con NaH da un anión en N3 que se alquila para proporcionar los intermedios (7). La ciclación de los intermedios (7), en presencia de base, proporciona los intermedios correspondientes (8).

Esquema 4

Los intermedios (8) se hacen reaccionar con 3-terc-butil-5-isocianato-1-aril-1H-pirazoles para proporcionar las ureas correspondientes. Los isocianatos respectivos pueden obtenerse por la reacción de aminas con fosgeno, trifosgeno o sus derivados, o por la conversión de los ácidos carboxílicos correspondientes en acil azidas con, por ejemplo, difenil fosforil azida seguido de transposición de Curtius. El grupo arilo en el pirazol puede estar, por ejemplo, sin sustituir o sustituido (por ejemplo, meta o para-sustituido) con un grupo alquilo (por ejemplo, -Me) o un átomo de halógeno (por ejemplo, -F, -Cl, -Br, -I).

Esquema 5



Composiciones

5 Un aspecto de la presente invención pertenece a una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto IP, como se describe en este documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En una realización, la composición comprende adicionalmente uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en este documento.

Otro aspecto de la presente invención pertenece a un procedimiento para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende mezclar un compuesto IP, como se describe en este documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la presente invención pertenece a un procedimiento para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende mezclar un compuesto IP, como se describe en este documento; uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en este documento; y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Usos

25 Los compuestos descritos en el presente documento son útiles, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, cáncer RAS mutante.

Para evitar dudas, la expresión "cáncer RAS mutante", se usa en el presente documento para referirse a cáncer que se caracteriza por (por ejemplo, dirigido por) RAS mutante, por ejemplo, por una o más mutaciones (por ejemplo, mutaciones de ganancia de función) en uno de los genes RAS (es decir *HRAS*, *KRAS*, y *NRAS*). Como se ha indicado en el presente documento, las mutaciones RAS más comunes implican codones para uno o más de glicina 12 (G12), glicina 13 (G13) y glutamina 61 (Q61).

Uso en métodos de terapia

35 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto IP, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento por terapia del organismo del ser humano o de un animal.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto IP, como se describe en el presente documento, en combinación con uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento por terapia del organismo del ser humano o de un animal.

Uso en la preparación de medicamentos

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto IP, como se describe en el presente documento, en la preparación de un medicamento para su uso en tratamiento.

En una realización, el medicamento comprende el compuesto IP.

50 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto IP, como se describe en el presente documento, y a uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento, en la preparación de un medicamento para su uso en tratamiento.

En una realización, el medicamento comprende el compuesto IP y uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales.

Afecciones tratadas

- 5 En una realización, el tratamiento es tratamiento del cáncer.
- 10 En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer microcítico de pulmón, cáncer no microcítico de pulmón, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer intestinal, cáncer colorrectal, cáncer tiroideo, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer endometrial, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer de hígado, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, cáncer de vejiga, cáncer pancreático, cáncer de cerebro, glioma, sarcoma, osteosarcoma, cáncer de hueso, cáncer nasofaríngeo (por ejemplo, cáncer de cabeza, cáncer de cuello), cáncer de piel, cáncer escamoso, sarcoma de Kaposi, melanoma, melanoma maligno, linfoma o leucemia.
- 15 En una realización, el cáncer es:
 - un carcinoma, por ejemplo, un carcinoma de la vejiga, mama, colon/recto (por ejemplo, carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), de riñón, epidérmico, de hígado, de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma, cáncer microcítico de pulmón y carcinomas no microcíticos de pulmón), cáncer de
 - 20 esófago, de vesícula biliar, de ovario, de páncreas (por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), de estómago, de útero, tiroideo, de próstata, de piel (por ejemplo, carcinoma de células escamosas);
 - un tumor hematopoyético de linaje linfóide, por ejemplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda, linfoma de linfocitos B, linfoma de linfocitos T, linfoma Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas o linfoma de Burkett;
 - 25 un tumor hematopoyético de linaje mielóide, por ejemplo, leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico o leucemia promielocítica;
 - un tumor de origen mesenquimal, por ejemplo fibrosarcoma o rabdomiosarcoma;
 - un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo astrocitoma, neuroblastoma, glioma o schwannoma,
 - 30 melanoma, seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xenoderma pigmentoso; queratoacantoma; cáncer folicular tiroideo o sarcoma de Kaposi.
- En una realización, el cáncer es cáncer tumoral sólido.
- 35 En una realización, el cáncer es cáncer pancreático; cáncer tiroideo (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado); cáncer colorrectal; seminoma; síndrome mielodisplásico (SMD); cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado; leucemia (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma; cáncer de vejiga; cáncer de riñón, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de conducto biliar o glioma.
- 40 En una realización, el cáncer es cáncer pancreático.
En una realización, el cáncer es cáncer tiroideo.
En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal.
En una realización, el cáncer es seminoma.
En una realización, el cáncer es síndrome mielodisplásico (SMD).
- 45 En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón.
En una realización, el cáncer es adenocarcinoma pulmonar.
En una realización, el cáncer es cáncer de hígado.
En una realización, el cáncer es leucemia.
En una realización, el cáncer es leucemia mielógena aguda (LMA).
- 50 En una realización, el cáncer es melanoma.
En una realización, el cáncer es cáncer de vejiga.
En una realización, el cáncer es cáncer de riñón.
En una realización, el cáncer es cáncer de mama.
En una realización, el cáncer es cáncer de ovario.
- 55 En una realización, el cáncer es cáncer de conducto biliar.
En una realización, el cáncer es glioma.
- En una realización, el cáncer es cáncer RAS mutante (por ejemplo, cáncer pancreático RAS mutante, etc.).
- 60 En una realización, el cáncer se caracteriza por, o también se caracteriza por, células madre cancerosas.
- El efecto anticanceroso puede producirse a través de uno o más mecanismos, incluyendo, pero sin limitación, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la progresión del ciclo celular, la inhibición de la angiogénesis (la formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de metástasis (la propagación de un tumor desde su origen), la inhibición de la migración celular (la propagación de células cancerosas a otras partes del organismo), la inhibición de la invasión (la propagación de células tumorales en estructuras normales vecinas adyacentes), o la
- 65

promoción de la apoptosis (muerte celular programada). Los compuestos de la presente invención pueden usarse en el tratamiento de los cánceres descritos en el presente documento, independientemente de los mecanismos indicados en el presente documento.

5 Tratamiento

El término “tratamiento”, como se usa en el presente documento en el contexto de tratar una afección, se refiere generalmente a tratamiento y terapia, tanto de ser un humano como de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción en la velocidad del progreso, una detención en la velocidad del progreso, alivio de síntomas de la afección, mejoría y cura de la afección. También se incluye el tratamiento como una medida profiláctica (por ejemplo profilaxis). Por ejemplo, el uso en pacientes que aún no han desarrollado la afección, pero que están en riesgo de desarrollarla, se incluye en el término “tratamiento”.

Por ejemplo, tratamiento incluye la profilaxis del cáncer, la reducción de la frecuencia del cáncer, la reducción de la gravedad del cáncer, el alivio de los síntomas del cáncer, etc.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz”, como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto, o un material, composición o forma de dosificación que comprende un compuesto, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una proporción de beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

Terapias de combinación

El término “tratamiento” incluye tratamientos de combinación y terapias, en los que dos o más tratamientos o terapias se combinan, por ejemplo, de manera secuencial o simultánea. Por ejemplo, los compuestos descritos en el presente documento pueden también usarse en terapias de combinación, por ejemplo, junto con otros agentes, por ejemplo, agentes citotóxicos, agentes anticancerosos, etc. Como ejemplos de tratamientos y terapias se incluyen, pero sin limitación, quimioterapia, (la administración de agentes activos incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como una inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como una terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia; terapia fotodinámica, terapia génica y dietas controladas.

Por ejemplo, puede ser beneficioso combinar el tratamiento con un compuesto como se describe en el presente documento, con uno o más agentes (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) distintos o terapias que regulen el crecimiento o la supervivencia o la diferenciación celular mediante un mecanismo diferente, por tanto tratando diversos rasgos característicos de desarrollo de cáncer.

Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto como se describe en el presente documento, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, como se describe a continuación.

La combinación particular se realizaría a criterio del médico quien seleccionaría las dosificaciones usando su conocimiento general común y los regímenes de dosificación conocidos por un facultativo con experiencia.

Los agentes (es decir, el compuesto descrito en el presente documento, más uno o más agentes distintos) pueden administrarse simultánea o secuencialmente, y pueden administrarse en programas de dosificación que varían individualmente y mediante vías diferentes. Por ejemplo, cuando se administran secuencialmente, los agentes pueden administrarse a intervalos poco distantes (por ejemplo, durante un periodo de 5 a 10 minutos) o a intervalos más prolongados (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más horas de diferencia, e incluso periodos de diferencia más largos cuando se requiera) siendo equiparable el régimen de dosificación exacto con las propiedades del agente (o agentes) terapéutico.

Los agentes (es decir, el compuesto descrito en el presente documento, más uno o más agentes distintos) pueden formularse juntos en una forma de dosificación sencilla, o como alternativa, los agentes individuales pueden formularse por separado y presentarse juntos en la forma de un kit, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Otros usos

Los compuestos IP descritos en el presente documento también pueden usarse como parte de ensayo *in vitro*, por ejemplo, para determinar si es posible que un hospedador candidato se beneficie del tratamiento con el compuesto en cuestión.

Los compuestos IP descritos en el presente documento también pueden usarse como un patrón, por ejemplo, en un ensayo, para identificar otros compuestos, otros agentes anticancerosos, etc.

Kits

En el presente documento también se describe un kit que comprende (a) un compuesto IP como se describe en el presente documento, o una composición que comprende un compuesto IP como se describe en el presente documento, por ejemplo, preferentemente proporcionado en un recipiente adecuado y/o con un envasado adecuado y (b) instrucciones para su uso, por ejemplo, instrucciones por escrito sobre cómo administrar el compuesto o composición.

En una realización, el kit comprende adicionalmente uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento.

Las instrucciones por escrito también pueden incluir un listado de indicaciones para las que el ingrediente activo es un tratamiento adecuado.

Vías de administración

El compuesto IP, o la composición farmacéutica que comprende el compuesto IP, puede administrarse a un sujeto mediante cualquier vía de administración conveniente, bien de manera sistémica/periférica o tópica (es decir, en el sitio de acción deseado).

Las vías de administración incluyen, pero sin limitación, la administración oral (por ejemplo, por ingestión); bucal, sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, emplaste, etc.); transmucosa (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, emplaste, etc.); intranasal (por ejemplo, mediante pulverización nasal, gotas o a partir de un atomizador o un dispositivo de administración de polvo seco); ocular (por ejemplo, mediante gotas oculares); pulmonar (por ejemplo, mediante terapia por inhalación o insuflación usando, por ejemplo, un aerosol, por ejemplo, a través de la boca o la nariz); rectal (por ejemplo, mediante supositorios o enemas), vaginal (por ejemplo, mediante pesarios), parenteral, por ejemplo, por inyección, incluyendo inyección subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea, e intraesternal, mediante implante de un depósito o reserva, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular.

El sujeto/paciente

El sujeto/paciente puede ser un cordado, un vertebrado, un mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ejemplo, un canguro, un vombático), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), aviar (por ejemplo, un pájaro), canino (por ejemplo, un perro), felino (por ejemplo, un gato), equino (por ejemplo, un caballo), porcino (por ejemplo, un cerdo), ovino (por ejemplo, una oveja), bovino (por ejemplo, una vaca), un primate, simio (por ejemplo, un mono o un mico), un mono (por ejemplo, mono tití, babuino), un macaco (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

Adicionalmente, el sujeto/paciente puede ser cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

Formulaciones

Aunque es posible administrar el compuesto IP en solitario, se prefiere que esté presente como una formulación farmacéutica (por ejemplo, una composición, una preparación, un medicamento) que comprenda al menos un compuesto IP, como se describe en el presente documento, junto con uno o más ingredientes distintos farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes enmascaradores, agentes colorantes, agentes saporíferos y agentes edulcorantes farmacéuticamente aceptables. La formulación también puede comprender otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Por tanto, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas, como se define anteriormente, y métodos de preparación de una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto IP, como se describe en el presente documento, junto con uno o más ingredientes distintos farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, vehículos, diluyentes, excipientes, etc. Si se formula como unidades individuales (por ejemplo, comprimidos, etc.) cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosificación) del compuesto.

La expresión “farmacéuticamente aceptable”, como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, ingredientes, materiales, composiciones, formas de dosificación, etc., que están dentro del ámbito del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, ser humano) sin exceso de toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en consonancia con una proporción razonable de beneficio/riesgo. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también ha de ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con el resto de los ingredientes de la formulación.

Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados pueden encontrarse en textos farmacéuticos convencionales, por ejemplo Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5ª edición, 2005.

Las formulaciones pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Dichos métodos incluyen la etapa de asociar el compuesto con un vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el compuesto con vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, etc.) y después dando forma al producto, si fuera necesario.

La formulación puede prepararse para proporcionar una liberación rápida o lenta; inmediata, retardada, programada o sostenida; o una combinación de las mismas.

Las formulaciones pueden estar adecuadamente en forma de líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), elixires, jarabes, electuarios, colutorios, gotas, comprimidos (incluyendo, por ejemplo, comprimidos recubiertos), gránulos, polvos, pastillas para chupar, pastillas, cápsulas (incluyendo, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura y blanda), obleas, píldoras, ampollas, bolos, supositorios, pesarios, pigmentos, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, espumas, pulverizaciones, nebulizaciones o aerosoles.

Las formulaciones pueden proporcionarse adecuadamente como un parche, un emplaste adhesivo, un vendaje, un apósito o similar que se impregna con uno o más compuestos y opcionalmente uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, por ejemplo, potenciadores de penetración, filtración y absorción. Las formulaciones también pueden proporcionarse adecuadamente en forma de un depósito o reserva.

El compuesto puede disolverse en, suspenderse en, o mezclarse con, uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables distintos. El compuesto puede presentarse en un liposoma u otra micropartícula que se diseña para conducir el compuesto, por ejemplo, a componentes sanguíneos o a uno o más órganos.

Las formulaciones adecuadas para administración oral (por ejemplo, mediante ingestión) incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), elixires, jarabes, electuarios, comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas, obleas, píldoras, ampollas, bolos.

Las formulaciones adecuadas para administración bucal incluyen colutorios, pastillas para chupar, pastillas, así como parches, emplastes adhesivos, depósitos y reservas. Las pastillas para chupar comprenden normalmente el compuesto en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto. Las pastillas normalmente comprenden el compuesto en una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica. Los colutorios comprenden normalmente el compuesto en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones adecuadas para administración sublingual incluyen comprimidos, pastillas para chupar, pastillas, cápsulas y píldoras.

Las formulaciones adecuadas para administración transmucosa oral incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), colutorios, pastillas para chupar, pastillas, así como parches, emplastes adhesivos, depósitos y reservas.

Las formulaciones adecuadas para administración transmucosa no oral incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), supositorios, pesarios, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, así como parches, emplastes adhesivos, depósitos y reservas.

Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica incluyen geles, pastas, pomadas, cremas, lociones y aceites así como parches, emplastes adhesivos, vendajes, apósitos, depósitos y reservas.

Los comprimidos pueden prepararse por medios convencionales, por ejemplo, por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos fabricados por compresión pueden prepararse comprimiendo el compuesto en una máquina adecuada en una forma fluida, tal como, un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con uno o más aglutinantes (por ejemplo povidona, gelatina, goma arábica, sorbitol, tragacanto, hidroxipropilmetil celulosa); cargas o diluyentes (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina, hidrógeno fosfato cálcico), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, sílice); disgregantes (por ejemplo almidón glicolato sódico, povidona reticulada, carboximetil celulosa sódica reticulada); agentes tensioactivos o dispersantes o humectantes (por ejemplo, lauril sulfato sódico); conservantes (por ejemplo, metil *p*-hidroxibenzoato, propil *p*-hidroxibenzoato, ácido sórbico); aromatizantes, agentes potenciadores del sabor y edulcorantes. Los

comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, los comprimidos pueden revestirse o ranurarse y pueden formularse de manera que se proporcione una liberación lenta o controlada del compuesto en su interior usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en diversas proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden proporcionarse opcionalmente con un recubrimiento, por ejemplo, que afecta a la liberación, por ejemplo, un recubrimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino distintas del estómago.

Las pomadas se preparan normalmente a partir del compuesto y una base de pomada parafínica o miscible en agua

Las cremas se preparan normalmente a partir del compuesto y una base de crema de aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos aproximadamente el 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo, tales como, propilenglicol, butan-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que potencie la absorción o penetración del compuesto a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplos de dichos potenciadores de penetración dérmicos incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

Las emulsiones se preparan normalmente a partir del compuesto y una fase oleaginosa, que opcionalmente puede comprender simplemente un emulsionante (también conocido como emulgente) o puede comprender una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con ambas cosas, una grasa y un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizante. También es preferible incluir tanto un aceite como una grasa. En su conjunto, el emulsionante (o emulsionantes) con o sin estabilizante (o estabilizantes) constituye la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y/o grasa constituye la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase oleaginosa dispersa de las formulaciones de crema.

Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetosteárilico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato sódico. La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto en la mayoría de los aceites posiblemente a usar en formulaciones de emulsiones farmacéuticas debe ser muy baja. Por tanto, la crema debe ser preferentemente una crema no grasienta, que no manche y un producto que pueda lavarse con consistencia adecuada para impedir que se salga de los tubos u otros envases. Pueden usarse ésteres de alquilo mono o dibásicos de cadena lineal o ramificada, tales como diisoadipato, isocetil estearato, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, isopropil miristato, decil oleato, isopropil palmitato, butil estearato, 2-etilhexil palmitato o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocidos como Crodamol CAP, prefiriéndose los tres últimos ésteres. Estos pueden usarse solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, pueden usarse lípidos de elevado punto de fusión tales como parafina blanda y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, en las que el vehículo es un líquido, incluyen, por ejemplo, pulverización nasal, gotas nasales o mediante administración por aerosol a través de un nebulizador, que incluye soluciones acuosas u oleaginosas del compuesto.

Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, en las que el vehículo es un sólido, incluyen, por ejemplo, las que se presentan como un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 micrómetros que se administra de manera en la que se toma el rape, es decir, por inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente con el polvo mantenido cerca de la nariz.

Las formulaciones adecuadas para administración pulmonar (por ejemplo, mediante terapia por inhalación o insuflación) incluyen las que se presentan como un pulverizador en aerosol desde un envase presurizado, con el uso de un propulsor adecuado, tal como diclorofluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otros gases adecuados.

Las formulaciones adecuadas para administración ocular incluyen gotas oculares en las que el compuesto se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente en un disolvente acuoso para el compuesto.

Las formulaciones adecuadas para administración rectal que pueden prepararse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, aceites naturales o templados, ceras, grasas, polioles semilíquidos o líquidos, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato, o como una suspensión o solución para el tratamiento por enema.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones pulverizadoras que contienen, además del compuesto, vehículos tales como los conocidos en la técnica, apropiados.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección), incluyen líquidos estériles, acuosos o no acuosos, isotónicos, sin pirógenos (por ejemplo, soluciones, suspensiones), en las que el compuesto se disuelve, se suspende o se proporciona de otra manera (por ejemplo, en un liposoma u otra micropartícula). Dichos líquidos también pueden contener otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre (u otros líquidos corporales importantes) del receptor al cual se destina. Como ejemplos de excipientes se incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales, y similares. Como ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en dichas formulaciones se incluyen Inyección de Cloruro Sódico, Solución de Ringer o Inyección de Ringer Lactada. Normalmente, la concentración del compuesto en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones pueden presentarse en envases monodosis o multidosis herméticamente cerrados, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden conservarse en un estado criodesecado (liofilizado) que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección provisional pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Dosificación

Un experto en la técnica apreciará que las dosificaciones apropiadas de los compuestos IP, y composiciones que comprenden los compuestos IP, pueden variar de un paciente a otro. La determinación de la dosificación óptima generalmente implicará el equilibrio del nivel del beneficio terapéutico frente a cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de diversos factores que incluyen, pero sin limitación, la actividad del compuesto IP particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto IP, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la gravedad de la afección y la especie, sexo, edad, peso, estado, salud general e historial médico anterior del paciente. La cantidad de compuesto IP y la vía de administración se realizarán finalmente según el criterio del médico, veterinario o facultativo, aunque generalmente la dosificación se seleccionará para conseguir concentraciones locales en el lugar de acción que consigue el efecto deseado sin causar efectos secundarios perjudiciales o daño sustancial.

La administración puede efectuarse en una dosis, de manera continua o intermitente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos apropiados) a lo largo del ciclo de tratamiento. Los métodos para determinar los medios y dosificaciones de administración más eficaces son bien conocidos por los expertos en la técnica y variarán con la formulación usada para terapia, con la finalidad de la terapia, con la célula (o células) diana que vaya a tratarse, y con el sujeto que vaya a tratarse. Pueden realizarse administraciones sencillas o múltiples con el nivel de dosis y patrón que seleccione el médico, veterinario o facultativo tratante.

En general, una dosis adecuada del compuesto IP está en el intervalo de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 250 mg (más normalmente de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 25 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto al día. Cuando el compuesto es una sal, un éster, una amida, un profármaco o similar, la cantidad administrada se calcula basándose en el compuesto precursor y lo mismo el peso real a usar aumenta proporcionalmente.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan únicamente para ilustrar la presente invención y pretenden limitar el alcance de la invención, como se describe en este documento.

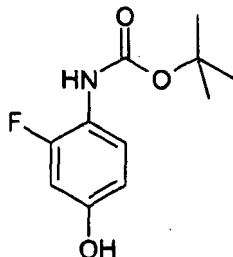
Síntesis Química

Todos los materiales de partida, reactivos y disolventes para reacciones fueron de calidad para reactivo y se usaron como se compraron. Los disolventes de cromatografía fueron de calidad para HPLC y se usaron sin purificación adicional. Las reacciones se controlaron por análisis de cromatografía en capa fina (TLC) usando placas de capa fina de gel de sílice 60 F-254 de Merck. La cromatografía ultrarrápida se realizó en gel de sílice 60 de Merck (0,015-0,040 mm) o en columnas de gel de sílice Isolute Flash Si y Si II desechables. El análisis por TLC preparativa se realizó en placas de TLC previamente recubiertas de Macherey-Nagel [809 023] SIL G-25 UV₂₅₄ o en placas de TLC preparativa previamente recubiertas de Analtech [2015], 2000 µm con UV₂₅₄. Los análisis por LCMS se realizaron en un sistema de HPLC Micromass LCT/Water's Alliance 2795 con una columna Discovery 5 µm, C18, 50 mm x 4, 6 mm de d.i. de Supelco a una temperatura de 22 °C usando los siguientes sistemas de disolventes: Disolvente A: metanol; Disolvente B: ácido fórmico al 0,1 % en agua a un caudal de 1 ml/min. Gradiente partiendo del 10 % de A/90 % de B de 0-0,5 minutos, después del 10 % de A/90 % de B al 90 % de A/10 % de B de 0,5 minutos a 6,5 minutos y continuando al 90 % de A/10 % de B hasta 10 minutos. A partir de 10-10,5 minutos, el gradiente se invirtió al 10 % de A/90 % en el que las concentraciones permanecieron hasta 12 minutos. La detección UV fue a 254 nm y la ionización fue electropulverización de ión positivo o negativo. El intervalo de barrido de peso molecular es 50-1000. Las muestras se suministraron como 1 mg/ml en DMSO o metanol con 3 µl inyectado en un llenado de bucle

parcial. Los espectros de RMN se registraron en DMSO- d_6 en un espectrómetro Bruker Advance 500 MHz.

Síntesis 1

5 2-Fluoro-4-hidroxifenilcarbamato de terc-butilo

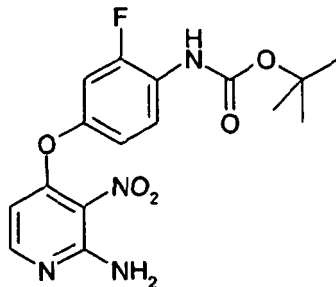


Se añadió 4-amino-3-fluorofenol (10,61 g, 83,5 mmol) a una mezcla fundida de Boc_2O (18,29 g, 83,8 mmol) e InCl_3 (188 mg, 0,85 mmol) a 35 °C. La mezcla de color negro se agitó a 35 °C durante 2 horas, tiempo durante el cual se convirtió en un aceite de color negro espeso. Después, la mezcla se diluyó con EtOAc (200 ml) y H_2O (200 ml) y la agitación continuó durante 10 minutos. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con H_2O (3 x 200 ml), se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró a sequedad. El aceite de color negro resultante se disolvió de nuevo en CH_2Cl_2 (50 ml) y se cargó sobre una columna de gel de sílice. La elución con EtOAc al 5 $\rightarrow$ 7 % en CH_2Cl_2 produjo el compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color amarillo claro.

Rendimiento: 16,7 g (90 %). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm), J (Hz): 1,42 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 6,50-6,57 (m, 2H, ArH), 7,11-7,21 (m, 1H, ArH), 8,45 (s a, 1H, OH), 9,63 (s, 1H, NHBoc); ^{13}C RMN ($\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm), J (Hz): 28,0, 78,6, 102,7 (d, $J_{\text{FH}} = 22,2$), 110,8 (d, $J_{\text{FH}} = 2,7$), 117,1 (d, $J_{\text{FH}} = 12,6$), 127,2, 153,7, 155,5 (d, $J_{\text{FH}} = 11,3$), 156,1 (d, $J_{\text{FH}} = 246$); ^{19}F -RMN ($\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm): -121,6; LC-MS (3,94 min): m/z calc. para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$ $[\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)_3]^+$: 172,0; observado: 172,0.

Síntesis 2

4-(2-Amino-3-nitropiridin-4-iloxi)-2-fluorofenilcarbamato de terc-butilo (3a)

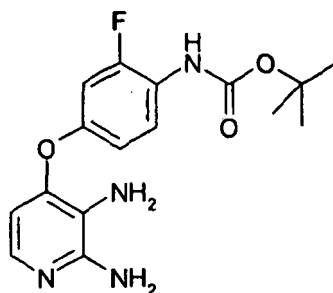


Se añadió DMSO seco (20 ml) a NaH (1,029 g de una dispersión al 60 % en aceite mineral, 25,7 mmol) en un matraz de fondo redondo en una atmósfera de argón. Después de 5 minutos, se añadió en tres porciones 2-fluoro-4-hidroxifenilcarbamato de terc-butilo sólido (5,59 g, 24,6 mmol), dando una solución de color oscuro, que, después de 15 minutos de agitación a temperatura ambiente, se trató con 4-cloro-3-nitropiridin-2-amina (4,23 g, 24,4 mmol) de inmediato. La solución de color rojo oscuro se calentó a 110 °C durante 1 hora y se dejó enfriar a temperatura ambiente. A la solución se le añadieron posteriormente EtOAc (150 ml) y H_2O (200 ml) y la capa orgánica se aisló. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron una vez con NaHCO_3 saturado (150 ml), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a sequedad para dar un sólido de color amarillo brillante. Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento: 8,68 g (98 %). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm), J (Hz): 1,46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 6,08 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5,5$, PyrH), 7,01 (m, 1H, ArH), 7,18 (s a, 2H, NH_2), 7,22 (m, 1H, ArH), 7,67 (m, 1H, ArH), 8,04 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5,5$, PyrH), 9,03 (s, 1H, NHBoc); ^{19}F -RMN ($\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm): -120,7; LC-MS (4,72 min): m/z calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{FN}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 365,0; observado: 365,0.

Síntesis 3

4-(2,3-Diaminopiridin-4-iloxi)-2-fluorofenilcarbamato de terc-butilo (4a)

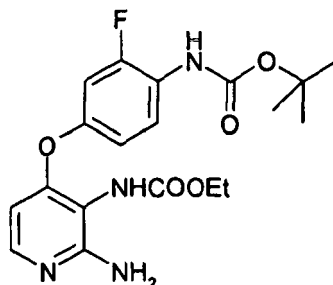


Se añadió Pd/C (1,09 g) a una solución de color amarillo de 4-(2-amino-3-nitropiridin-4-iloxi)-2-fluorofenilcarbamato de terc-butilo (**3a**) (6,20 g, 17,0 mmol) en EtOAc/EtOH (90/150 ml) y la mezcla de color negro se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 5 horas y se filtró sobre Celite. El filtrado de color pardo oscuro se concentró a sequedad, se disolvió de nuevo en CH₂Cl₂ (20 ml) y se cargo sobre una columna de gel de sílice. Los productos se eluyeron con EtOAc y las fracciones que contenían el compuesto del título se evaporaron a sequedad. El aceite de color naranja se disolvió en CH₂Cl₂ y se añadió una cantidad equivalente de hexano. La solución se concentró a sequedad para dar una espuma de color naranja.

Rendimiento: 4,30 g (76 %). ¹H RMN (DMSO-d₆), δ (ppm), J (Hz): 1,45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 4,47 (s, 2H, NH₂), 5,61 (s, 2H, NH₂), 6,09 (d, 1H, ³J_{HH} = 5,5, PyrH), 6,76 (m, 1H, ArH), 6,87 (m, 1H, ArH), 7,28 (d, 1H, ³J_{HH} = 5,5, PyrH), 7,47 (m, 1H, ArH), 8,82 (s, 1H, NHBoc); ¹³C RMN (DMSO-d₆), δ (ppm), J (Hz): 28,0, 79,1, 104,4, 105,9 (d, J_{FH} = 23,1), 113,4 (d, J_{FH} = 3,1), 120,3, 121,5 (d, J_{FH} = 12,2), 126,1, 135,7, 146,2, 150,5, 153,1 (d, J_{FH} = 10,1), 153,3, 155,1 (d, J_{FH} = 248); ¹⁹F-RMN (DMSO-d₆), δ (ppm): -120,7; LC-MS (2,69 min): *m/z* calc. para C₁₆H₂₀FN₄O₃ [M+H⁺]: 335,2; observado: 335,3.

Síntesis 4

4-(4-N-(terc-butoxicarbonil)-amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-carbamato de etilo (**5a**)

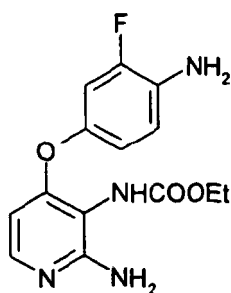


Se disolvió 4-(4-N-(terc-butoxicarbonil)-amino-3-fluorofeniloxi)-2,3-diaminopiridina (**4a**) (2,5 g, 7,5 mmol) en THF seco (50 ml) en agitación, se añadió piridina (1,2 ml, 15 mmol) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió de una vez cloroformiato de etilo (0,77 ml, 8,0 mmol). Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas más. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se repartió entre DCM y Na₂CO₃ acuoso saturado. La capa orgánica se lavó con H₂O, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gradiente de eluyente de DCM a EtOAc) para proporcionar el compuesto del título en forma de una espuma.

Rendimiento: 1,13 g, 37 %. ¹H RMN δ: 1,17 (t, 3H, CH₃,_{Et}, J = 7,1 Hz), 1,45 (s, 9H, tBu), 4,02 (c, 2H, J = 7,1, CH₂,_{Et}), 5,89 (s, 2H, NH₂,_{Py,2}), 5,98 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 6,83 (d, 1H, H_{arom}), 6,96 (d, 1H, H_{arom}), 7,55 (t, 1H, H_{arom}), 7,73 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 8,29 (s, 1H, NH_{Py,3}), 9,39 (s, 1H, NHBoc).

Síntesis 5

4-(4-Amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-carbamato de etilo (**6a**)

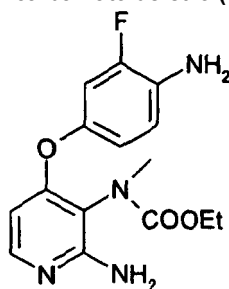


Se disolvió 4-(4-N-(*tert*-butoxicarbonil)-amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-carbamato de etilo (**5a**) (1,13 g, 2,8 mmol) en TFA (8 ml), se añadieron unas gotas de agua y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El TFA se evaporó, el residuo se disolvió en agua (20 ml), se neutralizó con Na₂CO₃ acuoso saturado y se extrajo con DCM (2 x 20 ml). La capa orgánica se secó y se evaporó para proporcionar el compuesto del título.

Rendimiento: 730 mg, 86 %. ¹H RMN δ: 1,17 (t, 3H, J = 7,1, CH₃,Et), 4,05 (c, 2H, J = 7,0, CH₂,Et), 5,04 (s, 2H, NH₂,Ph), 5,71 (s, 2H, NH₂,Py), 5,86 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 6,64 (d, 1H, H_{arom}), 6,73-6,82 (m, 2H, H_{arom}), 7,68 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 8,23 (s a, 1H, NH_{Py3}). LC-MS: *m/z* 307 ([M+H]⁺, 100).

Síntesis 6

4-(4-amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-metil-carbamato de etilo (**7a**)

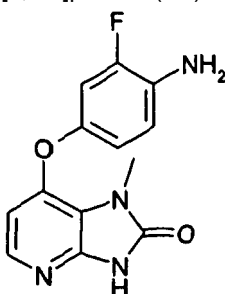


Se disolvió 4-(4-amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-carbamato de etilo (**6a**) (480 mg, 1,6 mmol) en THF seco (8 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió hidruro sódico (al 60 % en aceite mineral, 80 mg, 2,0 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante 40 minutos a 0 °C. Se añadió yoduro de metilo (130 μl, 1,8 mmol) a 0 °C. El baño de hielo se retiró, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se repartió entre DCM y agua destilada. La capa orgánica se secó y se evaporó, y el residuo se lavó con éter dietílico para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color pardo.

Rendimiento: 322 mg, 63 %. ¹H RMN δ: 1,09 (t, 3H, J = 7,0, CH₃,Et), 3,00 (s, 3H, CH₃N), 3,90-4,10 (m, 2H, CH₂,Et), 5,07 (s, 2H, NH₂,Ph), 5,87 (d, 1H, H_{Py}), 6,03 (s, 2H, NH₂,Py), 6,63 (t, 1H, H_{arom}), 6,77-6,81 (m, 2H, H_{arom}), 7,75 (d, 1H, H_{Py}).

Síntesis 7

7-(4-Amino-3-fluorofenoxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8a**)

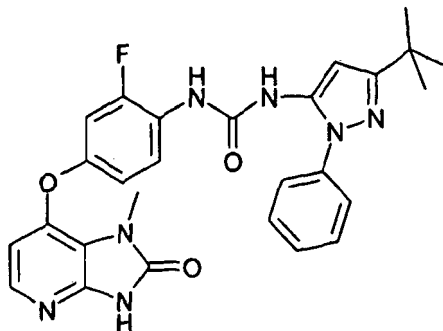


Se suspendió 4-(4-amino-3-fluorofenoxi)-2-aminopiridin-3-il-metil-carbamato de etilo (**7a**) (320 mg, 1,0 mmol) en una solución de EtONa en EtOH (4 ml), obtenida a partir de la disolución de sodio (480 mg, 21 mmol) en etanol (9 ml). La suspensión se calentó por irradiación de microondas durante 1 hora (100 °C, 100 W). La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en agua y se acidificó con AcOH a pH 4. El precipitado formado se recuperó por filtración, para proporcionar el compuesto del título.

Rendimiento: 188 mg, 67 %. ^1H RMN δ : 3,46 (s, 3H, CH_3N), 5,11 (s, 2H, NH_2), 6,35 (d, 1H, $J = 5,9$, H_{Py}), 6,77-6,82 (m, 2H, H_{arom}), 6,99 (d, 1H, H_{arom}), 7,76 (d, 1H, $J = 6,0$, H_{Py}), 11,54 (s, 1H, NH_{Py}).

Síntesis 8

1-(3-Terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-il)-3-(2-fluoro-4-(1-N-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)fenil)urea (**AA-01**)

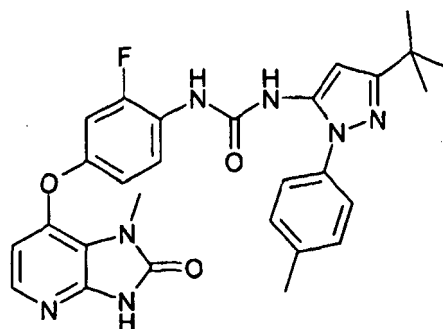


Se disolvió 3-terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-amina (550 mg, 1,8 mmol) en CH_2Cl_2 (25 ml) y se añadió un volumen equivalente de NaHCO_3 saturado (ac.). La mezcla bifásica se agitó y se enfrió a 0°C con un baño de hielo/agua. Después de 10 minutos, se añadieron 2 equiv. de una solución 1,9 M de fosgeno en tolueno. La mezcla se agitó vigorosamente durante 10 minutos, la capa orgánica se aisló, se lavó con H_2O , se secó (MgSO_4) y se concentró para dar aproximadamente 5 ml. Esta solución se añadió a una solución de la 7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8a**) (200 mg, 1,4 mmol) en THF. La solución se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron y el residuo sólido se lavó con Et_2O y CH_2Cl_2 para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco.

Rendimiento: 200 mg, 53 %. ^1H RMN, δ : 1,28 (s, 9H, terc-Bu), 3,42 (s, 3H, CH_3), 6,39 (s, 1H, $\text{H}_{\text{Pyz},4}$), 6,49 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Pyz},5}$), 6,99 (dd, 1H, $J = 1,6$, 9,0, H_{arom}), 7,21 (dd, 1H, $J = 11,9$, 2,7, H_{arom}), 7,40-7,45 (m, 1H, H_{arom}), 7,50-7,58 (m, 4H, H_{arom}), 7,81 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Pyz},6}$), 8,10 (t, 1H, $J = 9,1$, H_{arom}), 8,80 (s, 1H, NH_{urea}), 8,93 (s, 1H, NH_{urea}), 11,63 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{Pyz},2}$). LC-MS: m/z 516 ($[\text{M}]^+$, 100). HRMS (EI): m/z calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 516,2154; observado: 516,2152.

Síntesis 9

1-(3-Terc-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(2-fluoro-4-(1-N-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)fenil)urea (**AA-02**)

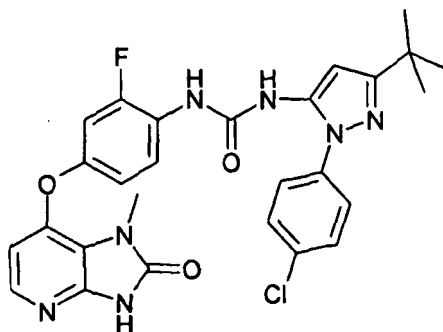


El compuesto del título se preparó a partir de 3-terc-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-amina (458 mg, 2 mmol) y 7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8a**) (110 mg, 0,4 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para (**AA-01**), en forma de un sólido de color blanquecino.

Rendimiento: 150 mg, 71 %. ^1H RMN, δ : 1,27 (s, 9H, terc-Bu), 2,38 (s, 3H, Ph-CH_3), 3,42 (s, 3H, N-CH_3), 6,37 (s, 1H, $\text{H}_{\text{Pyz},4}$), 6,49 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Pyz},5}$), 6,96 (dd, 1H, H_{arom}), 7,20 (d, 1H, H_{arom}), 7,34 (d, 2H, $J = 8,3$, H_{arom}), 7,39 (d, 2H, $J = 8,4$, H_{arom}), 7,81 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Pyz},6}$), 8,11 (t, 1H, H_{arom}), 8,74 (s, 1H, NH_{urea}), 8,92 (s, 1H, NH_{urea}), 11,61 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{Pyz},2}$). LC-MS: m/z 530 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

Síntesis 10

1-(3-Terc-butil-1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-5-il)-3-(2-fluoro-4-(1-N-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)fenil)urea (**AA-03**)

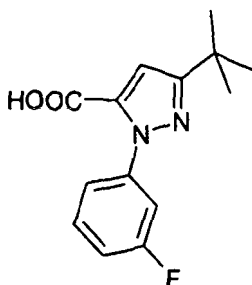


El compuesto del título se preparó a partir de 3-terc-butil-1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-5-amina (375 mg, 1,5 mmol) y 7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8a**) (150 mg, 0,55 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para (**AA-01**), en forma de un sólido de color blanquecino.

Rendimiento: 190 mg, 63 %. ^1H RMN, δ : 1,28 (s, 9H, terc-Bu), 3,42 (s, 3H, CH_3), 6,39 (s, 1H, $\text{H}_{\text{Py},4}$), 6,49 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Py},5}$), 6,96 (dd, 1H, 9,0, H_{arom}), 7,21 (d, 1H, H_{arom}), 7,57 (d, 2H, $J = 9,0$, H_{arom}), 7,60 (d, 2H, $J = 8,9$, H_{arom}), 7,81 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Py},6}$), 8,08 (t, 1H, H_{arom}), 8,80 (s, 1H, NH_{urea}), 8,89 (s, 1H, NH_{urea}), 11,63 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{Py},2}$). LC-MS: m/z 549 ($[\text{M}]^+$, 100).

Síntesis 11

Ácido 3-terc-butil-1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-5-carboxílico



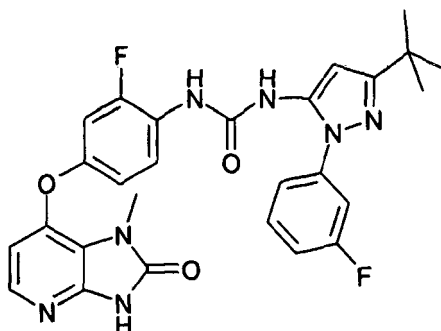
En un matraz de fondo redondo (secado en una estufa) se suspendieron ácido (3-fluorofenil)borónico (224 mg, 1,6 mmol), pirazol-5-carboxilato de etil-3-t-butilo (320 mg, 1,6 mmol), acetato de cobre (355 mg, 1,9 mmol) y piridina seca (158 μl , 1,9 mmol) en agitación vigorosa y una atmósfera de argón en 10 ml de DMF seca. A la mezcla de reacción, se le añadieron 300 mg de un tamiz molecular de 4 Å y la suspensión se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. La suspensión se diluyó con 20 ml de AcOEt, se lavó con agua (2 x 20 ml), después con 20 ml de una solución conc. de NaHCO_3 y 20 ml de salmuera, se secó (MgSO_4) y se evaporó al vacío. Se obtuvo un aceite espeso (520 mg) que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

El aceite se disolvió en 10 ml de EtOH y se añadieron 3 ml de una solución de NaOH (2 M) en agitación, y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 30 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se ajustó a pH 4 (con AcOH) y se extrajo con 20 ml de AcOEt. La capa orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml), se secó y se evaporó al vacío. Se obtuvo un sólido (457 mg). El sólido se purificó en Biotage usando 3:1 de ciclohexano:AcOEt para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco.

Rendimiento: 166 mg (40 %). ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,30 (s, 9H), 6,95 (s, 1H, H_{pyr}), 8,59 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 7,25-7,32 (m, 1H, H_{arom}), 7,35 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz, H_{arom}), 7,47-7,52 (m, 1H, H_{arom}), 13,22 (s, 1H, $\text{H}_{\text{ácido}}$). HRMS: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_2$, 262,1118, observado: 262,1117.

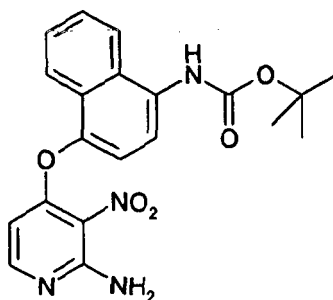
Síntesis 12

1-(3-Terc-butil-1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)-3-(2-fluoro-4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-



Rendimiento: 25 mg, 9 %. ^1H RMN, δ : 1,28 (s, 9H, terc-Bu), 3,41 (s, 3H, CH_3), 6,40 (s, 1H, $\text{H}_{\text{Pyz},4}$), 6,49 (d, 1H, $J = 6,1$, $\text{H}_{\text{Py},5}$), 6,96-7,02 (m, 1H, H_{arom}), 7,19-7,26 (m, 2H, H_{arom}), 7,36-7,44 (m, 2H, H_{arom}), 7,58 (t, 1H, H_{arom}), 7,81 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Py},6}$), 8,06 (t, 1H, $J = 9,1$, H_{arom}), 8,83 (s, 1H, NH_{urea}), 8,92 (s, 1H, NH_{urea}), 11,64 (s a, 1H, $\text{NH}_{\text{Py},2}$). LC-MS: m/z 533 ($[\text{M}]^+$, 100).

Síntesis 13

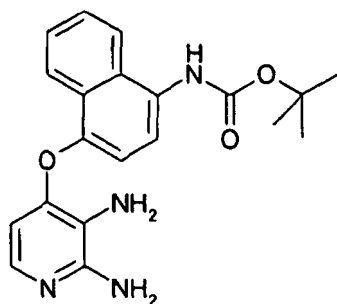
4-(2-Amino-3-nitropiridin-4-il-oxi)naftalen-1-il-carbamato de terc-butilo (**3b**)

El compuesto del título se preparó a partir de 4-hidroxinaftalen-1-ilcarbamato de terc-butilo (Regan, J. y col., J. Med. Chem., 2002, Vol. 45, Nº 14, pág. 2994) (3,9 g, 15 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para el compuesto (**3a**).

Rendimiento: 5,4 g, 90 %, tras la recristalización en diclorometano. ^1H RMN (DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 1,52 (s, 9H, C(CH $_3$) $_3$), 5,80 (d, 1H, J = 5,7, PyrH), 7,26 (s, 2H, NH $_2$), 7,38 (d, 1H, J = 8,3, ArH, *Naph*), 7,58-7,69 (m, 3H, ArH, *Naph*), 7,86-7,89 (m, 1H, ArH, *Naph*), 7,93 (d, 1H, J = 5,5, PyrH), 8,14-8,17 (m, 1H, ArH, *Naph*), 9,36 (s, 1 H, NHBoc).

Síntesis 14

4-(2,3-Diaminopiridin-4-il-oxi)naftalen-1-il-carbamato de terc-butilo (**4b**)

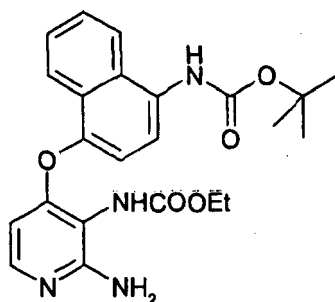


El compuesto del título se preparó a partir de 4-(2-amino-3-nitropiridin-4-il-oxi)naftalen-1-il-carbamato de *tert*-butilo (3b) (0,50 g, 1,26 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para el compuesto (4a) en forma de un sólido de color pardo.

Rendimiento: 0,38 g (82 %). ^1H RMN (DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 1,55 (s, 9H, C(CH $_3$) $_3$), 4,63 (s, 2H, NH $_2$), 5,66 (s, 2H, NH $_2$), 5,92 (d, 1H, J = 5,6, PyrH), 7,05 (d, 1H, J = 8,3, ArH, Naph), 7,24 (d, 1H, J = 5,5, PyrH), 7,54 (d, 1H, J = 8,3, ArH, Naph), 7,60-7,65 (m, 2H, ArH, Naph), 8,07-8,12 (m, 2H, ArH, Naph), 9,22 (s, 1H, NHBoc).

Síntesis 15

4-(4-*N*-Boc-aminonaftalen-1-il-oxi)-3-*N*-aminocarbamoiletil-2-amino-piridina (**5b**)

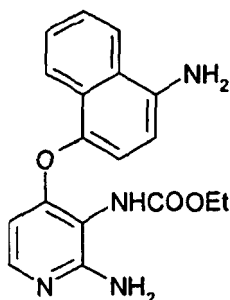


Se disolvieron 4-(4-*N*-Boc-aminonaftalen-1-il-oxi)-2,3-diaminopiridina (**4b**) (500 mg, 1,4 mmol) y la piridina (222 μl , 2,7 mmol) en THF seco (8 ml) en agitación vigorosa a 0 °C. A esta solución se le añadió de una vez el cloroformato de etilo (136 ml, 1,5 mmol). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 10 horas más. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se repartió entre EtOAc y una solución de Na $_2$ CO $_3$. La capa orgánica se lavó (20 ml de salmuera), se secó (MgSO $_4$) y se evaporó para proporcionar un residuo sólido. Después de la purificación por LC (columna Isolute, Flash Si II, 50 g/170 ml; eluyente: EtOAc), se obtuvo el compuesto deseado.

Rendimiento: 475 mg, 75 %. ^1H RMN δ : 1,14-1,21 (m, 3H, CH $_3$), 1,50 (s, 9H, tBu), 4,04-4,10 (m, 2H, CH $_2$), 5,66 (d, 1H, J = 5,7, H $_{\text{Py}}$), 5,84 (s, 2H, NH $_2$), 7,15 (d, 1H, J = 8,1, H $_{\text{arom}}$), 7,49-7,60 (m, 3H, H $_{\text{arom}}$), 7,62 (d, 1H, J = 5,7, H $_{\text{Py}}$), 7,98-8,04 (m, 1H, H $_{\text{arom}}$), 8,07 (d, 1H, J = 8,5, H $_{\text{arom}}$), 8,40 (s, 1H, NH $_{\text{carb}}$), 9,22 (s, 1H, NH $_{\text{Boc}}$) LC-MS: m/z 440 [(M + H) $^+$, 100]. HRMS (EI): m/z calc. para C $_{23}$ H $_{27}$ N $_4$ O $_5$ [(M + H) $^+$]: 439,1981; observado 439,1979.

Síntesis 16

4-(4-Aminonaftalen-1-il-oxi)-3-*N*-aminocarbamoiletil-2-amino-piridina (**6b**)



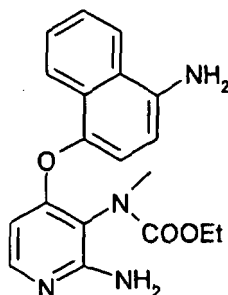
Se disolvió 4-(4-*N*-Boc-aminonaftalen-1-il-oxi)-3-*N*-aminocarbamoiletil-2-aminopiridina (**5b**) (475 mg, 1,05 mmol) en

TFA seco (10 ml) en agitación vigorosa a 0 °C. Se dejó que la solución alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas más. El TFA se evaporó al vacío y el residuo oleoso se repartió entre EtOAc y una solución de Na₂CO₃. La capa orgánica se lavó (20 ml de salmuera), se secó (MgSO₄) y se evaporó para proporcionar un residuo sólido.

Rendimiento: 346 mg, 97 %. ¹H RMN δ: 1,19-1,26 (m, 3H, CH₃), 4,07-4,13 (m, 2H, CH₂), 5,57 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 5,77 (s, 4H, 2 x NH₂), 6,66 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 6,97 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 7,37-7,45 (m, 2H, H_{arom}), 7,55 (d, 1H, J = 5,7, H_{Py}), 7,76-7,86 (s a, 1H, H_{arom}), 8,09-8,12 (m, 1H, H_{arom}), 8,36 (s, 1H, NH_{carb}). LC-MS: *m/z* 339 [(M+H)⁺, 100]. HRMS (EI): *m/z* calc. para C₁₈H₁₉N₄O₃ [(M+H)⁺, 100]: 339,1457; observado 339,1459.

Síntesis 17

4-(4-Aminonaftalen-1-il-oxi)-3-N-metil-N-aminocarbamoiletil-2-amino-piridina (7b)

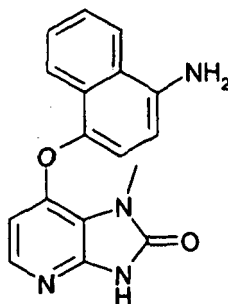


Se disolvió 4-(4-aminonaftalen-1-il-oxi)-3-N-aminocarbamoiletil-2-amino-piridina (**6b**) (350 mg, 1,04 mmol) en THF seco (8 ml) en agitación vigorosa a 0 °C y argón. A esta solución se le añadió NaH (dispersión al 60 % en aceite mineral) (45 mg, 1,14 mmol). Después de 40 minutos, se añadió MeI (66 ml, 0,91 mmol) a 0 °C. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 10 horas más. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se recogió de nuevo en 20 ml de EtOAc. La solución se lavó con salmuera (2 x 20 ml), se secó y se evaporó a sequedad. El residuo se trituró con Et₂O y se filtró para dar el compuesto del título en forma de un sólido.

Rendimiento: 238 mg, 65 %. ¹H RMN δ: 1,12-1,29 (m, 3H, CH₃), 3,14 (s, 3H, CH₃), 4,05-4,16 (m, 2H, CH₂), 5,53 (d, 1H, J = 5,8, H_{Py}), 5,75 (s, 2H, NH₂), 6,01 (s, 2H, NH₂), 6,66 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 6,96 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 7,37-7,43 (m, 2H, H_{arom}), 7,57 (d, 1H, J = 5,8, H_{Py}), 7,59-7,64 (m, 1H, H_{arom}), 8,11-8,15 (m, 1H, H_{arom}). LC-MS: *m/z* 353 [(M+H)⁺, 100]. HRMS (EI): *m/z* calc. para C₁₉H₂₁N₄O₃ [(M+H)⁺]: 353,1614; observado 353,1610.

Síntesis 18

7-(4-Aminonaftalen-1-il-oxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridina-2(3H)-ona (**8b**)

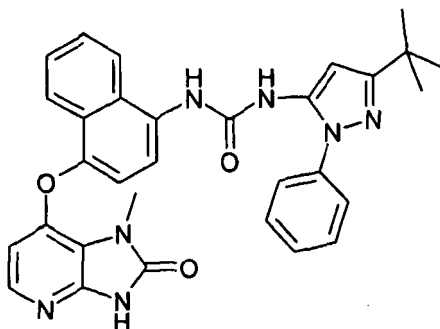


Se suspendieron 230 mg (0,65 mmol) 4-(4-aminonaftalen-1-il-oxi)-3-N-metil-N-aminocarbamoiletil-2-aminopiridina (**7b**) en 5,0 ml de una solución 1,0 M de EtONa en EtOH. La suspensión se sometió a microondas (150 W, 100 °C) durante 45 minutos. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad, se recogió en 20 ml H₂O, el pH se ajustó a 4,5 (AcOH), precipitando el compuesto del título.

Rendimiento: 167 mg, 84 %. ¹H RMN δ: 3,61 (s, 3H, CH₃), 5,79 (s, 2H, NH₂), 6,10 (d, 1H, J = 5,9, H_{Py}), 6,68 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 7,10 (d, 1H, J = 8,1, H_{arom}), 7,43-7,48 (m, 2H, H_{arom}), 7,64 (d, 1H, J = 5,8, H_{Py}), 7,74-7,81 (m, 1H, H_{arom}), 8,12-8,17 (m, 1H, H_{arom}), 11,57 (s, 1H, NH_{Py}). LC-MS: *m/z* 307 [(M+H)⁺, 100]. HRMS (EI): *m/z* calc. para C₁₇H₂₅N₄O₂ [(M+H)⁺]: 307,1195; observado 307,1188.

Síntesis 19

1-(3-terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(1-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)naftalen-1-il)urea

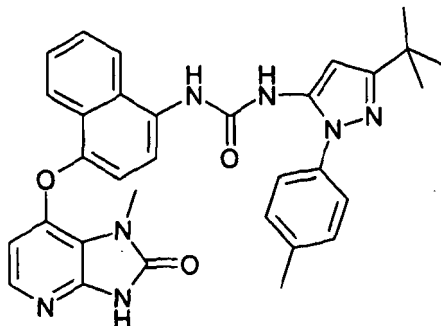
(BB-01)

El compuesto del título se preparó a partir de 3-terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-amina (0,18 mmol) y 7-(4-aminonaftalen-1-il-oxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8b**) (50 mg, 0,16 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para (**AA-01**), en forma de un sólido de color blanquecino.

Rendimiento: 87 mg, 98 %. ^1H RMN, δ 1,29 (s, 9H, terc-Bu), 3,53 (s, 3H, CH_3), 6,29 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{py},5}$), 6,40 (s, 1H, H_{pyr}), 7,24 (d, 1H, $J = 8,3$, H_{arom}), 7,43 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,54-7,63 (m, 5H), 7,66 (t, 1H, $J = 8,2$, H_{arom}), 7,74 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{py},6}$), 7,86 (d, 2H, $J = 8,3$, H_{arom}), 8,05-8,10 (m, 1H), 8,77 (s, 1H, NH_{urea}), 9,07 (s, 1H, NH_{urea}), 11,64 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{py},2}$). LC-MS: Fr = 8,25 min; m/z 548,2 (M^+ , 100). HRMS (EI): m/z calc. para $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 548,2410; observado: 548,2404.

Síntesis 20

1-(1-N-p-tolil-3-terc-butil-pirazol-5-il)-3-(4-(2-oxo-2,3-dihidro-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-il-oxi)naftalen-1-il)urea (**BB-02**)

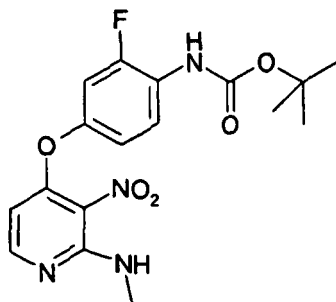


El compuesto del título se preparó a partir de 3-terc-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-amina (35 mg, 0,15 mmol) y 7-(4-aminonaftalen-1-il-oxi)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (**8b**) (40 mg, 0,13 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para (**AA-01**), en forma de un sólido de color blanquecino.

Rendimiento: 52 mg, 71 %. ^1H RMN, δ : 1,28 (s, 9H, terc-Bu), 2,40 (s, 3H, CH_3), 3,53 (s, 3H, CH_3), 6,29 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{py},5}$), 6,39 (s, 1H, H_{pyr}), 7,24 (d, 1H, $J = 8,4$, H_{arom}), 7,36 (d, 2H, $J = 8,2$, H_{arom}), 7,45 (d, 2H, $J = 8,2$, H_{arom}), 7,60 (t, 1H, $J = 7,5$, H_{arom}), 7,67 (t, 1H, $J = 7,6$, H_{arom}), 7,74 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{py},6}$), 7,87 (d, 1H, $J = 8,3$, H_{arom}), 8,07 (d, 2H, $J = 8,3$, H_{arom}), 8,71 (s, 1H, NH_{urea}), 9,06 (s, 1H, NH_{urea}), 11,65 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{py},3}$). LC-MS: Fr = 5,23 min; m/z 562,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). HRMS (EI): m/z calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 562,2561; observado: 562,2566.

(Referencia) Síntesis 21

2-Fluoro-4-(2-(metilamino)-3-nitropiridin-4-iloxi)fenilcarbamato de terc-butilo

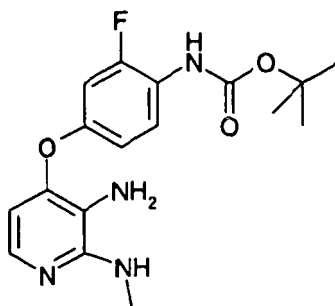


Se disolvió 2-fluoro-4-hidroxifenilcarbamato de terc-butilo (3,25 g, 14,4 mmol) en DMSO (25 ml) y la solución se agitó en una atmósfera de argón durante 20 minutos. Se añadió en porciones hidruro sódico (al 60 % en aceite mineral, 580 mg, 14,4 mmol) y la solución de color oscura se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió de una vez 4-cloro-N-metil-3-nitropiridin-2-amina (2,7 g, 14,4 mmol) disuelta en DMSO (5 ml) y la solución de color rojo se agitó a 50 °C durante 2 horas. La solución se enfrió, se vertió sobre hielo picado (200 g) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 5,3 g, 90 %. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,47 (s, 9H, terc-Bu) 2,93 (d, J = 4,5 Hz, CH_3N), 6,08 (d, J = 5,7 Hz, 1H, H_{py}), 7,00 (m, 1H, H_{arom}), 7,22 (m, 1H, H_{arom}), 7,55 (c, J = 4,5 Hz, 1H, NHCH_3), 7,66 (m, 1H, H_{arom}), 8,14 (d, J = 5,7 Hz, 1H, 1H, H_{py}), 9,04 (s a, 1H, NH). LC-MS: m/z 378,3 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

(Referencia) Síntesis 22

4-(3-Amino-2-(metilamino)piridin-4-iloxi)-2-fluorofenilcarbamato de terc-butilo

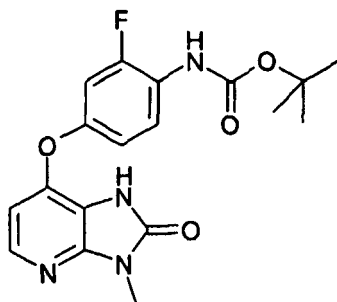


Se disolvió 2-fluoro-4-(2-(metilamino)-3-nitropiridin-4-iloxi)fenilcarbamato de terc-butilo (5,3 mg, 14 mmol) en etanol absoluto (600 ml) y se hidrogenó en un cartucho de Pd al 10 %/C a través de un aparato H-Cube, para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 4,88 g (rendimiento cuantitativo). ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,44 (s, 9H, terc-Bu), 2,85 (d, 3H, J = 4,5 Hz, CH_3N), 4,51 (s a, 2H, NH_2), 5,94 (m, 1 H, CH_3NH), 6,10 (d, 1H, J = 5,6 Hz, H_{py}), 6,72 (m, 1 H, H_{arom}), 6,85 (m, 1H, H_{arom}), 7,37 (d, 1H, J = 5,6 Hz, H_{py}), 7,44 (m, 1 H, H_{arom}), 8,87 (s a, 1 H, NH). LC-MS: m/z 348,4 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

(Referencia) Síntesis 23

2-Fluoro-4-(3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)fenilcarbamato de terc-butilo

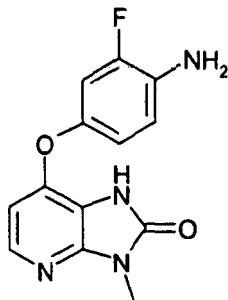


A una solución enfriada con hielo de 4-(3-amino-2-(metilamino)piridin-4-iloxi)-2-fluorofenilcarbamato de terc-butilo (4,9 g, 14 mmol) en THF (150 ml) y piridina (10 ml) en una atmósfera de argón, se añadió una solución de trifosgeno (4,45 g, 15 mmol) en THF (75 ml) durante 2 horas a través de un embudo de decantación. La solución se agitó durante 2 horas a 0 °C seguido de 4 horas a temperatura ambiente, y después se calentó a reflujo durante una noche. Después de un periodo de refrigeración, la solución se filtró, se evaporó y se sometió a cromatografía en un aparato Biotage (columna 25+M, eluyente 1/1 de DCM/EtOAc) para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco.

Rendimiento: 2,05 g, 40 %. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,47 (s, 9H, terc-Bu), 3,32 (s, 3H, CH_3N), 6,53 (d, 1H, J = 5,9 Hz, H_{py}), 6,94 (m, 1H, H_{arom}), 7,15 (m, 1H, H_{arom}), 7,60 (m, 1H, H_{arom}), 7,89 (d, 1H, J = 5,9 Hz, H_{py}), 8,97 (s, 1 H, NH), 11,46 (s, 1H, NH). LC-MS: m/z 375,1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

(Referencia) Síntesis 24

7-(4-Amino-3-fluorofenoxi)-3-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona

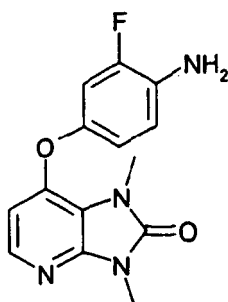


Una solución de 2-fluoro-4-(3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)fenilcarbamato de terc-butilo (2,18 g, 5,8 mmol) en TBAF 1 M en THF (41 ml) se calentó a reflujo durante una noche en una atmósfera de argón. La solución se enfrió y se evaporó y se añadió agua (20 ml), después de lo cual se formó un precipitado. El precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino.

Rendimiento: 1,37 g, 86 %. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6): δ 3,29 (s, 3H, CH_3N), 5,17 (s, 2H, NH_2), 6,35 (d, 1H, $J = 5,94$ Hz, H_{py}), 6,74-6,83 (m, 2H, H_{arom}), 6,99 (m, 1H, H_{arom}), 7,81 (d, 1H, $J = 5,94$ Hz, H_{py}), 11,44 (s, 1H, NH). LC-MS: m/z 275,1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

(Referencia) Síntesis 25

7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-1,3-dimetil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona

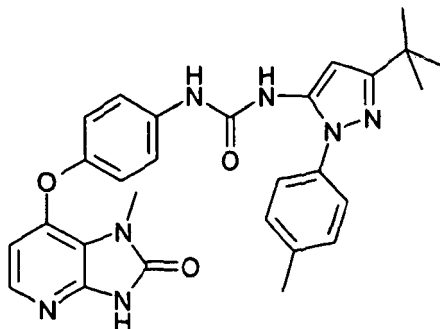


A una solución de 7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-3-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (100 mg, 0,365 mmol) en THF (4 ml) a 0 °C en una atmósfera de argón se le añadió en una porción NaH (16,77 mg, 0,419 mmol). La solución resultante se agitó durante 20 minutos y se añadió yodometano (0,025 ml, 0,401 mmol). Después de 1 hora, se añadió agua, y la solución se evaporó y se extrajo con DCM (3 x 20 ml) para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 80 mg, 0,278 mmol, 76 %. ^1H RMN (CDCl_3), δ : 3,51 (s, 3H, Me), 3,66 (s, 3H, Me), 6,40 (d, 1H, $J = 6,0$, $\text{H}_{\text{arom,Py}}$), 6,74 (ddd, 1H, $J = 8,6, 2,5, 1,0$, $\text{H}_{\text{arom,FPh}}$), 6,83 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom,FPh}}$), 7,87 (d, 1H, $J = 6,0$, $\text{H}_{\text{arom,Py}}$). LC-MS: Fr = 2,60 min; m/z 289,1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 90).

(Referencia) Síntesis 26

1-(1-N-p-tolil-3-terc-butil-pirazol-5-il)-3-(4-(2-oxo-2,3-dihidro-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-il-oxi)fenil)urea (XX-02)



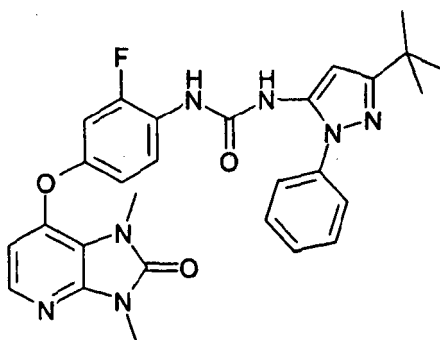
El compuesto del título se preparó usando 3-terc-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-amina (43,7 mg, 0,19 mmol) y 7-(4-aminofeniloxy)-1-N-metil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (Niculescu-Duvaz, D. y col., J. Med. Chem., 2009, Vol.

52, N° 8, pág. 2255) (40 mg, 0,16 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para **(AA-01)**, en forma de un sólido de color blanco.

Rendimiento: 62 mg, 76 %. ^1H RMN, δ : 1,27 (s, 9H, terc-Bu), 2,37 (s, 3H, CH_3), 3,44 (s, 3H, CH_3), 6,35 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Py},5}$), 6,39 (s, 1H, H_{Pyr}), 7,11 (d, 2H, $J = 9,0$, H_{arom}), 7,33 (d, 2H, $J = 8,3$, H_{arom}), 7,39 (d, 2H, $J = 8,3$, H_{arom}), 7,47 (d, 2H, $J = 9,0$, H_{arom}), 7,78 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{Py},6}$), 8,32 (s, 1H, NH_{urea}), 9,08 (s, 1H, NH_{urea}), 11,59 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{Py}3}$). LC-MS: $F_r = 5,14$ min; m/z 511 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). HRMS (EI): m/z calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 512,2405; observado: 512,2405.

(Referencia) Síntesis 27

1-(3-Terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(1,3-dimetil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-2-fluorofenil)urea (**XX-03**)

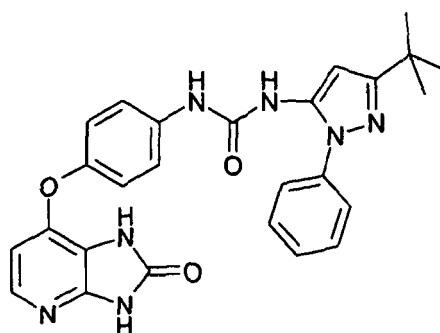


El compuesto del título se preparó a partir de 3-terc-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-amina (130 mg, 0,60 mmol) y 7-(4-amino-3-fluorofenoxi)-1,3-dimetil-1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-ona (100 mg, 0,35 mmol) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito para **(AA-01)**, en forma de un polvo de color amarillo.

Rendimiento: 15 mg, 8 %. ^1H RMN (CDCl_3), δ : 1,39 (s, 9H, terc-Bu), 3,48 (s, 3H, Me), 3,59 (s, 3H, Me), 6,47 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{arom,Py}}$), 6,49 (s, 1H, $\text{H}_{\text{PyZ},4}$), 6,85 (dd, 1H, $J = 11,1$, $2,5$, $\text{H}_{\text{arom,FPh}}$), 6,89 (d, 1H, $J = 9,0$, $\text{H}_{\text{arom,FPh}}$), 7,31 (t, 1H, $J = 7,7$, $\text{H}_{\text{arom,Ph}}$), 7,42 (t, 2H, $J = 7,7$, $\text{H}_{\text{arom,Ph}}$), 7,50 (d, 2H, $J = 7,9$, $\text{H}_{\text{arom,Ph}}$), 7,92 (d, 1H, $J = 5,9$, $\text{H}_{\text{arom,Py}}$), 8,15 (t, 1H, $J = 8,9$, $\text{H}_{\text{arom,FPh}}$). LC-MS: $F_r = 2,78$ min; m/z 530 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 90). HRMS (EI): m/z calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{FN}_7\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 530,2310; observado: 530,2326.

(Referencia) Síntesis 28

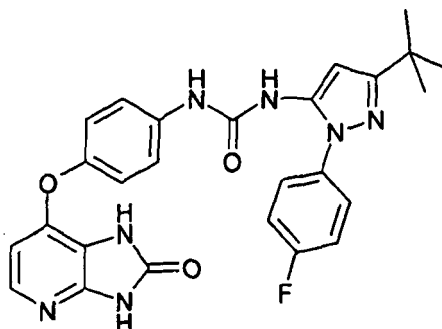
1-(5-Terc-butil-2-fenil-2H-pirazol-3-il)-3-[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-fenil]-urea (**XX-01**)



El compuesto del título se obtuvo usando procedimientos conocidos, como se muestra, por ejemplo, en la Síntesis 61 en Niculescu-Duvaz y col., 2006.

(Referencia) Síntesis 29

1-[5-terc-Butil-2-(4-fluoro-fenil)-2H-pirazol-3-il]-3-[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-7-iloxi)-fenil]-urea (**XX-04**)



El compuesto del título se obtuvo usando procedimientos conocidos, como se muestra, por ejemplo, en la Síntesis 79 en Niculescu-Duvaz y col., 2006.

5 Métodos biológicos

Métodos biológicos - Ensayo A - Ensayo DELFIA quinasa

Los compuestos se ensayaron por un ensayo quinasa realizado de acuerdo con el siguiente protocolo.

10

Se prepararon los siguientes reactivos:

Tampón quinasa DELFIA (DKB):

Tabla 2			
Reactivo	Concentración de reserva	Volumen por ml (μl)	Volumen por placa de 10 ml (μl)
MOPS 20 mM pH 7,2	0,2 M	100	1000
EGTA 0,5 M pH 8,0	0,5 M	10	100
MgCl ₂ 10 mM	1 M	10	100
β-mercaptoetanol al 0,1 %	-	1	10
β-glicerofosfato 25 mM	0,5 M	50	500
Agua	100 %	829	8290
MOPS = ácido 3-[N-morfolino] propanosulfónico (Sigma M3183). EGTA = ácido etilenglicol bis(2-aminoetileter)-N,N,N',N'-tetraacético (Sigma E3889).			

15

DKB1 (DKB con proteína B-RAF y MEK):

Combinar 4950 μl de DKB y 50 μl de 2,5 mg/ml de reserva GST-MEK (para proporcionar 1 mg de MEK por 40 μl). Después añadir 22,5 μl de B-RAF para dar -0,2 μl de B-RAF por 40 μl.

20

DKB2 (DKB con proteína MEK):

Combinar 4950 μl de DKB y 50 μl de 2,5 mg/ml de reserva GST-MEK (para proporcionar 1 mg de MEK por 40 ml). Usar 500 μl de esto para el vector apagado (BO, *Blow Out*) y control vector vacío (VV).

25

ATP:

Reserva 100 mM, diluir a 500 μM para dar 100 μM de concentración final en el ensayo.

30

Inhibidores (Compuestos de ensayo):

Reserva 100 mM diluir a 10, 3, 1, 0,3, 0,1, 0,03, 0,01, 0,003, 0,001, 0,0003, y 0,0001 mM en DMSO en placa farmacológica, obteniéndose una concentración de 100, 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1, 0,03, 0,01, 0,003, y 0,001 μM en el ensayo.

35

Anticuerpo primario:

Fosfo-MEK1/2 CST N° 9121S diluido 1:1000 en tampón de ensayo (AB, *Assay Buffer*) DELFIA
Preincubar el anticuerpo en el AB durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso.

Anticuerpo secundario:

- 5 Anticuerpo secundario de conejo marcado con europio Perkin Elmer N° AD0105 diluido 1:1000 en tampón de ensayo (AB) DELFIA. Preincubar el anticuerpo en el AB durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso. (Los anticuerpos primarios y secundarios se incubaron juntos).

10 *Tween:*

Tween 20 al 0,1 % en agua.

Tampón de ensayo:

- 15 Tampón de ensayo DELFIA Perkin Elmer N° 4002-0010.

Solución de potenciación:

- 20 Solución de potenciación DELFIA Perkin Elmer N° 4001-0010.

Placas de ensayo:

- 25 Placa negra de 96 pocillos revestida con glutatión Perbio N° 15340.

Procedimiento:

1. Prebloquear los pocillos con leche al 5 % en TBS durante 1 hora.
- 30 2. Lavar los pocillos 3 x con TBS 200 µl
3. Poner en la placa 40 µl de DKB1 para todos los inhibidores (compuestos de ensayo), control DMSO, y opcionalmente otros compuestos control.
- 35 4. Poner en la placa 40 µl de DKB2 para pocillos BO y VV.
5. Añadir inhibidores (compuestos de ensayo) a 0,5 µl por pocillo de acuerdo con la distribución de placa deseada.
- 40 6. Añadir 0,5 µl de DMSO a los pocillos control con vehículo.
7. Añadir 2 µl de B-RAF a pocillos BO y VV.
8. Preincubar con inhibidores (compuestos de ensayo) durante 10 minutos a temperatura ambiente con agitación.
- 45 9. Añadir 10 µl de 500 µM de reserva de ATP, en DKB, para dar una concentración de ensayo de 100 µM.
10. Sellar las placas con TopSeal e incubar a temperatura ambiente con agitación durante 45 minutos.
- 50 11. Lavar las placas 3 x con 200 µl de Tween 20 al 0,1 %/agua para finalizar la reacción.
12. Añadir 50 µl por pocillo de mezcla de anticuerpo e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación.
- 55 13. Lavar las placas 3 x con 200 µl de Tween 20 al 0,1 %/agua.
14. Añadir 100 µl de solución de potenciación DELFIA por pocillo, cubrir en papel de aluminio, e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación.
- 60 15. Leer en un lector Victor usando un protocolo Europeo.

Los valores del blanco (Vector Vacío) se restan de todos los valores. Los controles de DMSO se establecen como actividad al 100 % y los puntos de ensayo (la respuesta) se calculan como un porcentaje del control de DMSO. Los datos se representan usando el programa informático Graphpad Prism y se calcula una línea de regresión no lineal usando una ecuación de respuesta a dosis sigmoidal de pendiente variable:

65

$$Y = \text{Inferior} + [\text{Superior} - \text{Inferior}] / [1 + 10^{((\text{LogCE50} - X) * \text{Pendiente de ladera})}]$$

en la que X es el logaritmo de concentración e Y es la respuesta. La IC50 (Concentración Inhibidora media) generada por este procedimiento es la concentración del fármaco que produce un valor de fluorescencia de control en porcentaje intermedio entre la saturación y el nivel de efecto cero. Normalmente se realizan tres ensayos independientes y se indica la IC50 media.

Métodos biológicos - Ensayo B- Ensayo fosfo-ERK basado en células

Los compuestos se ensayaron usando un ensayo basado en células que se realizó de acuerdo con el siguiente protocolo.

Día 0:

Poner en la placa 16.000 células WM266.4 BRAF mutantes / pocillo en medio 99 µl en una placa de 96 pocillos.

Día 1:

1. Añadir 1 µl de inhibidor (compuesto de ensayo) a las células (total 1 µl de solución).
2. Incubar las células con el compuesto de ensayo durante 6 horas a 37 °C.
3. Aspirar la solución de todos los pocillos.
4. Fijar las células con 100 µl de formaldehído al 4 %/Tritón X-100 al 0,25 % PBS por pocillo.
5. Incubar la placa durante 1 hora a 4 °C.
6. Aspirar la solución fijadora y añadir 300 µl de TBS por pocillo.
7. Dejar la placa durante una noche a 4 °C.

Día 2:

1. Lavar la placa 2 x con 200 µl de PBS por pocillo.
2. Bloquear con 100 µl de leche deshidratada al 5 % en TBS.
3. Incubar la placa durante 20 minutos a 37 °C.
4. Lavar la placa 2 x con tween al 0,1 %/H₂O.
5. Añadir a cada pocillo 50 µl de 3 µg/ml de anticuerpo primario pERK (Sigma M8159), diluido en leche en polvo al 5 %/TBS.
6. Incubar la placa durante 2 horas a 37 °C.
7. Lavar la placa 3 x con tween al 0,1 %/H₂O.
8. Añadir a cada pocillo 50 µl de 0,45 µg/ml de anticuerpo secundario anti-ratón marcado con Europio (Perkin Elmer).
9. Incubar la placa durante 1 hora a 37 °C.
10. Lavar la placa 3 x con tween al 0,1 %/H₂O.
11. Añadir a cada pocillo 100 µl de solución potenciadora (Perkin Elmer).
12. Dejar la placa durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente antes de agitarla cuidadosamente.
13. Leer la Fluorescencia Resuelta en Tiempo del Europio en un lector Victor 2.
14. Lavar la placa 2 x con tween al 0,1 %/H₂O.
15. Medir la concentración de proteína con BCA (Sigma) añadiendo 200 µl de solución por pocillo.
16. Incubar la placa durante 30 minutos a 37 °C.
17. Leer los niveles de absorbancia a 570 nm en un lector de placa.

Obsérvese que los recuentos del Europio se normalizan para niveles de proteína dividiendo los recuentos entre la absorbancia.

Los valores para el blanco (sin células) se restan de todos los valores. Los controles con DMSO se establecen como actividad al 100 % y los puntos de ensayo (la respuesta) se calculan como un porcentaje del control de DMSO. Los datos se representan usando un programa informático Graphpad Prism y se calcula una línea de regresión no lineal usando una ecuación de respuesta a dosis sigmoidal de pendiente variable:

$$Y = \text{Inferior} + [\text{Superior} - \text{Inferior}] / [1 + 10^{((\text{LogCE50} - X) * \text{Pendiente de ladera})}]$$

en la que X es el logaritmo de concentración e Y es la respuesta. La IC50 generada por este procedimiento es la concentración del fármaco que produce un valor de fluorescencia de control en porcentaje intermedio entre la saturación y el nivel de efecto cero. Normalmente se realizan tres ensayos independientes y se indica la IC50 media.

Métodos biológicos - Ensayo C - ensayo de proliferación de células SRB (SRB GI₅₀)

Se cultivaron líneas celulares (por ejemplo, las líneas celulares de melanoma WM266.4 y A375M; la línea celular de carcinoma colorrectal SW620) rutinariamente en DMEM o RPMI1640 complementado con suero bovino fetal al 10 % a 37 °C en una atmósfera saturada con agua con CO₂ al 10 %. Los cultivos se mantuvieron en fase de crecimiento exponencial subcultivando antes de que hubiesen llegado a confluencia (intervalos de 3-5 días). Se prepararon suspensiones de células sencillas recogiendo un matraz de cultivo de tejido de 80 cm² con 5 ml de EDTA tripsina comercial. Después de 5 minutos, las células separadas se mezclaron con 5 ml de medio de cultivo totalmente complementado y se sedimentaron por centrifugación (1000 rpm durante 7 minutos). Después de aspirar el sobrenadante, el sedimento celular se volvió a suspender en 10 ml de medio reciente y las células se disgregaron completamente extrayendo el volumen completo hacia arriba y hacia abajo 5 veces a través de una aguja de calibre 19. La concentración de las células se determinó usando un hemocitómetro (dilución 1/10). Se preparó un volumen adecuado para proporcionar al menos un exceso de 2 veces para el número de ensayos a realizar, normalmente 100-200 ml, diluyendo la suspensión celular a 10.000-40.000/ml, y se dispensaron 100 µl/pocillo en placas de 96 pocillos usando una bomba peristáltica programable de 8 canales, proporcionando 1000-4000 células/pocillo, dejando blanco en la columna 12. Las placas volvieron a llevarse a la incubadora durante 24 horas para permitir que las células volvieran a unirse.

Los compuestos a ensayar se prepararon a 10 mM en DMSO. Se diluyeron alícuotas (24 µl) en 1,2 ml de medio de cultivo proporcionando 200 µM y 10 diluciones en serie de 3 x realizadas transfiriendo 80 µl a 160 µl. A los pocillos se añadieron alícuotas (100 µl) de cada dilución, usando una pipeta de 8 canales, realizando así una dilución final adicional 2 x y proporcionando dosis que variaban de 100 µM a 0,005 µM. La columna 11 solo recibió medio de cultivo plano. Cada compuesto se ensayó por cuadruplicado, siendo cada copia el promedio de cuatro pocillos.

Después de 5 días de crecimiento adicionales, las placas se vaciaron y las células se fijaron en ácido tricloroacético al 10 % durante 30 minutos a 4 °C. Después de aclarar cuidadosamente con agua corriente, las placas se secaron y se tiñeron añadiendo 50 µl de una solución de sulforrodamina-B al 0,1 % en ácido acético al 1 %, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se echó el colorante y las placas se aclararon cuidadosamente con un flujo de ácido acético al 1 %, eliminando así el colorante no unido y se secaron. El colorante unido se incorporó a la solución añadiendo 100 µl de tampón Tris pH 8, seguido de 10 minutos en un agitador de placa (aproximadamente 500 rpm). En cada pocillo se determinó la absorbancia a 540 nm (que es proporcional al número de células presentes) usando un lector de placa.

Después de realizar el promedio de los valores blanco en la columna 12 esto se restó de todos los valores y los resultados se expresaron como un porcentaje del valor no tratado (columna 11). Los 10 valores así obtenidos (por cuadruplicado) se representaron frente al logaritmo de la concentración de fármaco y se analizaron por regresión no lineal con una ecuación logística de cuatro parámetros, estableciendo limitaciones si se sugieren por inspección. La GI₅₀ generada por este procedimiento es la concentración del fármaco que produce una A₅₄₀ de control en porcentaje intermedio medio entre la saturación y el nivel de efecto cero.

Métodos Biológicos - Estudios de Xenoinjerto

Se inocularon células de carcinoma colorrectal humano SW620 (RAS mutante, 7 x 10⁷) o células de melanoma humano A375M (BRAF mutante, 10⁷) por vía subcutánea en suspensión (0,2 ml) en el costado derecho de ratas atímicas Crl:CD1-Foxn1nu hembra. Los grupos se asignaron para el tratamiento después de asignación estratificada de volúmenes tumorales. El tratamiento con el compuesto de ensayo comenzó entre los días 11-14 después de la administración de las células. Por sonda, se administró una suspensión (DMSO:agua, 1:19, v/v a 10 ml/kg). Los animales control recibieron una dosis similar de vehículo (DMSO: agua, 1:19, v/v). El tratamiento con el compuesto de ensayo continuó una vez al día durante 24 dosis.

Datos Biológicos - Datos de Ensayo

Los datos de diversos compuestos de la presente invención, así como de diversos compuestos de comparación, se resumen en la siguiente tabla. Valores más bajos de IC₅₀/GI₅₀ indican mayor fuerza.

Tabla 3					
	Ensayo A	Ensayo B	Ensayo C	Ensayo C	Ensayo C
	BRAF	pERK	SRB	SRB	SRB
	-	WM266.4	WM266.4	A375M	SW620
Código	IC ₅₀ (mM)	IC ₅₀ (mM)	GI ₅₀ (mM)	GI ₅₀ (mM)	GI ₅₀ (mM)
AA-01	0,27	0,26	0,052	0,138	0,167

Tabla 3					
	Ensayo A	Ensayo B	Ensayo C	Ensayo C	Ensayo C
	BRAF	pERK	SRB	SRB	SRB
AA-02	0,197	0,020	0,057		
AA-03	0,302	0,060	0,121		
BB-01	0,25	0,019	0,008	0,052	1,6
BB-02	2,28	0,026	0,016	0,101	1,685
XX-01	0,094	0,62	0,39	1,13	0,84
XX-02	0,20	0,09	0,066	0,25	0,45
XX-03	1,09	0,12	0,033	0,247	6,83
XX-04	0,24	0,20	0,020	0,307	2,72

En el ensayo enzimático BRAF realizado *in vitro* (Ensayo A), los compuestos de la presente invención (~ 0,2 - 2,3 μM) y los compuestos de comparación (~0,1 - 1,1 μM) tuvieron valores similares de IC_{50} BRAF.

- 5 En el ensayo basado en células pERK realizado *in vitro* (Ensayo B), los compuestos de la presente invención (- 0,02 - 0,26 μM) y los compuestos de comparación (~ 0,1 - 0,6 μM) tuvieron valores similares de IC_{50} pERK.

- 10 En el ensayo basado en células SRB realizado *in vitro* (Ensayo C), para las líneas celulares BRAF mutantes WM266.4 y A375M, los compuestos de la presente invención (WM266.4: ~ 0,01 - 0,12 μM ; A375M: ~0,05 - 0,14 μM) y los compuestos de comparación (WM266.4: ~ 0,02 - 0,4 μM ; A375M: ~ 0,25 - 1,1 μM) tuvieron valores similares de GI_{50} . Cabe destacar que, BB-01 fue el más fuerte (con un valor de GI_{50} más bajo: WM266.4, 0,008 μM ; A375M, 0,052 μM) y XX-01 fue el menos fuerte (con un valor de GI_{50} más alto: WM266.4, 0,39 μM ; A375M, 1,13 μM).

- 15 En el ensayo basado en células SRB realizado *in vitro* (Ensayo C), para la línea celular RAS mutante SW620, los compuestos de la presente invención (SW620: ~ 0,17 - 1,6 μM) y los compuestos de comparación (SW620: - 0,45 - 7 μM) tuvieron valores de GI_{50} similares.

- 20 Sin embargo, obsérvese, basándose en los datos de RAS mutante *in vitro*, cabría esperar que XX-01 y XX-02 tuviesen mejor eficacia terapéutica que BB-02, en el estudio de xenoinjerto de SW620 de RAS mutante *in vivo*.

De manera similar, basándose en los datos de RAS mutante *in vitro*, cabría esperar que XX-02 tuviese una eficacia terapéutica similar a la de AA-01, en el estudio de xenoinjerto de SW620 de RAS mutante *in vivo*.

- 25 Basándose en los datos de RAS mutante *in vitro*, no cabría esperar que los compuestos reivindicados (especialmente AA-01 y BB-02) fuesen sustancialmente más eficaces que los compuestos de comparación (XX-01, XX-02, XX-03, XX-04), en el estudio de xenoinjerto de SW620 de RAS mutante *in vivo*.

Datos Biológicos - Datos de selectividad de BRAF/RAS/tipo natural (Wild Type, wt)

- 30 Los datos de diversos compuestos de la presente invención, así como de diversos compuestos de comparación se ilustran en las Figuras 4 a 10, como se ha descrito anteriormente. Los datos ilustran la selectividad, o ausencia de selectividad, de las líneas celulares BRAF mutante o RAS mutante.

- 35 La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto AA-01. La serie de líneas celulares es (a) un panel de líneas celulares BRAF mutantes (mutBRAF): WM266.4, A375M, UACC62; (b) un panel de líneas celulares RAS mutantes (mutRAS): SW620, HCT116, y WM1361; y (c) un panel de líneas celulares BRAF y RAS de tipo silvestre (wtBRAF/RAS): SKMEL23, KM12, y BT474.

- 40 La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto BB-01. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

- 45 La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 del compuesto BB-02. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-01. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-02. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-03. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra la proporción de la GI_{50} de cada una de una serie de líneas celulares con respecto a la GI_{50} de la línea celular WM266.4 para el compuesto de comparación XX-04. La serie de líneas celulares es como se indica en la Figura 4.

Basándose en estos datos *in vitro*, no cabría esperar que los compuestos reivindicados (especialmente AA-01 y BB-02) fuesen sustancialmente más eficaces que los compuestos de comparación (XX-01, XX-02, XX-03, XX-04), en el estudio de xenoinjerto de SW620 de RAS mutante *in vivo*.

Datos Biológicos - Datos de Xenoinjerto

Los datos de xenoinjerto de los diversos compuestos de la presente invención así como de los diversos compuestos de comparación se ilustran en las Figuras 11-19.

La Figura 11 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto AA-01 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto AA-01 reduce sustancialmente el volumen tumoral durante el periodo de tiempo del estudio (por ejemplo, un factor de aproximadamente 3), en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 12 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto BB-02 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto BB-02 reduce sustancialmente el volumen tumoral durante el periodo de tiempo del estudio (por ejemplo, un factor de aproximadamente 1,5), en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 13 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto AA-01 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto AA-01 reduce sustancialmente el volumen tumoral durante el periodo de tiempo del estudio (por ejemplo, un factor de aproximadamente 2,5), en comparación con el control, para esta línea celular de melanoma.

La Figura 14 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto BB-02 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto BB-02 reduce sustancialmente el volumen tumoral sobre la escala en el tiempo del estudio (por ejemplo, un factor de aproximadamente 1,5), en comparación con el control, para esta línea celular de melanoma BRAF mutante.

La Figura 15 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-01 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto de comparación XX-01 tuvo un efecto relativamente pequeño, en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 16 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-02 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto de comparación XX-02 tuvo un efecto relativamente pequeño, en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 17 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-03 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto de comparación XX-03 tuvo un efecto relativamente pequeño, en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 18 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular RAS mutante SW620, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-04 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto de comparación XX-04 tuvo un efecto relativamente pequeño, en comparación con el control, para esta línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante.

La Figura 19 es un gráfico de volumen tumoral relativo en función del tiempo (días) de xenoinjertos de ratón de la línea celular BRAF mutante A375, para el tratamiento con el compuesto de comparación XX-02 y para controles.

Los datos demuestran que el compuesto de comparación XX-02 es al menos hasta cierto grado eficaz, en comparación con el control, para esta línea celular de melanoma BRAF mutante.

Las proporciones de volumen tumoral (para tratamiento) con respecto a volumen tumoral (para control) (T/C) para los xenoinjertos de SW620 de RAS mutante se muestran en la siguiente tabla. Una proporción T/C más baja indica una mayor eficacia. Mientras que todos los compuestos de comparación tienen proporciones T/C que indican poca o ninguna eficacia, los dos compuestos reivindicados AA-01 y BB-02 tienen proporciones T/C que demuestran eficacia estadísticamente significativa.

Tabla 4	
Código	Proporción de: volumen Tumoral (Tratamiento) / Volumen Tumoral (Control) (xenoinjerto de SW620 RAS mutante)
AA-01	0,34
BB-02	0,66
XX-01	>1
XX-02	0,95
XX-03	0,97
XX-04	0,87

Los datos de los compuestos reivindicados demuestran que, los compuestos reivindicados no son solo eficaces como inhibidores de BRAF y contra tumores BRAF mutantes (por ejemplo, xenoinjertos de la línea celular de melanoma BRAF mutante A375M; Figura 13 y Figura 14), sino que, sorprendentemente y de manera inesperada, los compuestos reivindicados también son eficaces contra tumores RAS mutantes (por ejemplo, xenoinjertos de la línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante SW620; Figuras 11 y 12). La actividad sorprendente e inesperada de los compuestos reivindicados contra tumores RAS mutantes no podría predecirse a partir de su actividad inhibidora BRAF conocida o esperada.

Los datos de los compuestos de comparación demuestran que, aunque los compuestos de comparación son hasta cierto grado eficaces contra tumores BRAF mutantes (por ejemplo, xenoinjertos de la línea celular de melanoma BRAF mutante A375M; Figura 19), tienen efecto relativamente pequeño contra tumores RAS mutantes (por ejemplo, xenoinjertos de la línea celular de carcinoma colorrectal RAS mutante SW620; Figuras 15, 16, 17 y 18).

La descripción anterior ha descrito los principios, las realizaciones preferidas y los modos de funcionamiento de la presente invención. Sin embargo, la invención no debe interpretarse como limitada a las realizaciones particulares indicadas. En cambio, las realizaciones anteriormente descritas deben considerarse como ilustrativas en lugar de limitativas.

Referencias

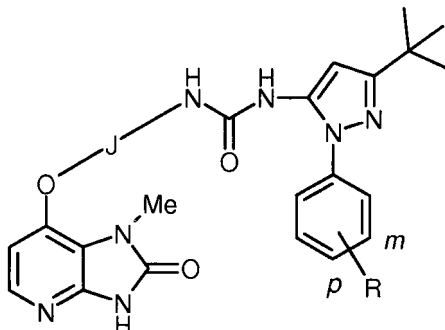
En el presente documento se citan diversas patentes y publicaciones para describir y analizar de un modo más completo la invención y el estado de la técnica a la cual pertenece la invención. A continuación se proporcionan todas las citas bibliográficas de estas referencias.

- Bos, 1989, "ras oncogenes in human cancer: a review", Cancer Res., Vol. 49, páginas 4682-4689.
 Downward, 2003, "Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy", Nat. Rev. Cancer, Vol. 3, páginas 11-22.

- Garnett *et al.*, 2004, "Guilty as charged: B-Raf is a human oncogene", *Cancer Cell*, Vol. 6, páginas 313-319.
- Gray-Schopfer *et al.*, 2007, "Melanoma biology and new targeted therapy", *Nature*, Vol. 445, páginas 851-857.
- Niculescu-Duvaz *et al.*, 2006, "Imidazo[4,5-b]pyridine-2-one and oxazolo[4,5-b]pyridine-2-one compounds and analogues thereof as therapeutic compounds", publicación de solicitud de patente internacional número WO 2006/043090 A1 publicada el 27 de abril de 2006.
- 5 Niculescu-Duvaz *et al.*, 2007, "Imidazo[4,5-b]pyridine-2-one and oxazolo[4,5-b]pyridine-2-one compounds and analogues thereof as cancer therapeutic compounds", publicación de solicitud de patente internacional número WO 2006/043090 A1 publicada el 8 de noviembre de 2007.
- Niculescu-Duvaz *et al.*, 2009, "Aryl-quinolyl compounds and their use", publicación de solicitud de patente internacional número WO 2006/043090 A1 publicada el 29 de octubre de 2009.
- 10 Solit *et al.*, 2006, "BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition", *Nature*, Vol. 439, páginas 358-362.
- Springer *et al.*, 2009, "Pyrido[2,3-b]pyrazine-8-substituted compounds and their use", publicación de solicitud de patente internacional número WO 2006/043090 A1 publicada el 25 de junio de 2009.
- 15 Wellbrock *et al.*, 2004, "The Raf proteins take centre stage", *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 5, páginas 875-885. Young *et al.*, 2009, "Ras signaling and therapies", *Adv. Cancer Res.*, Vol. 102, páginas 1-17.

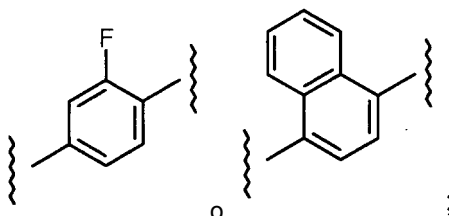
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre los compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



5

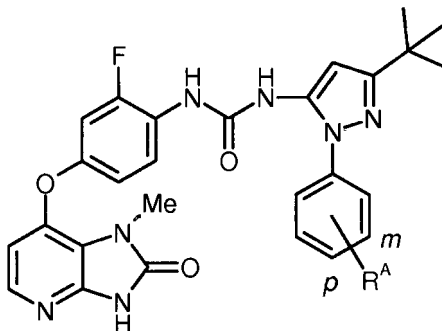
en la que -J- es independientemente:



10

y en la que -R es independientemente: -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I;
y en la que -R se sitúa en posiciones meta- o para- en el anillo fenilo.

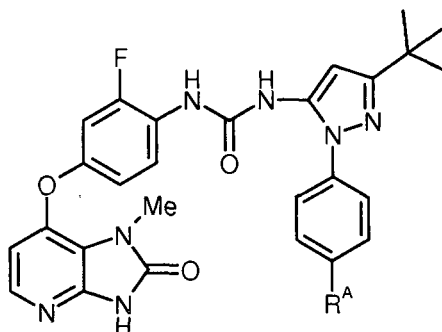
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



15

en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I;
y en la que -R^A se sitúa en posiciones meta- o para- en el anillo fenilo.

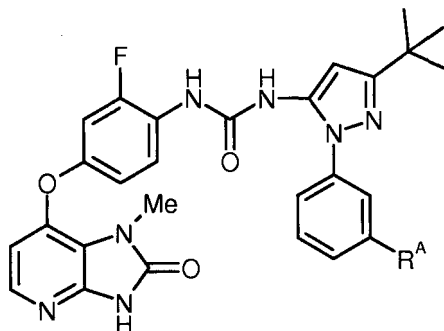
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



20

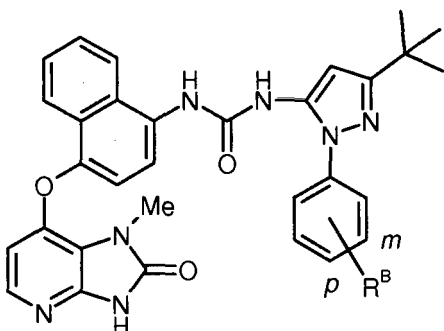
en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



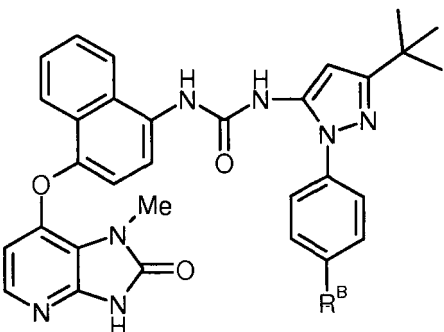
en la que -R^A es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



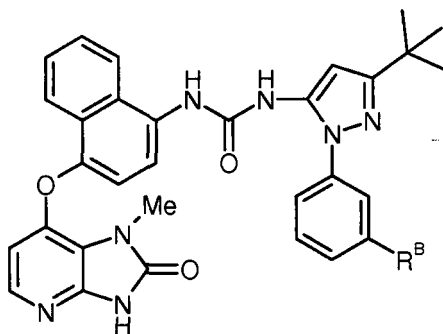
en la que -R^B es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I;
y en la que -R^B se sitúa en posiciones meta- o para- en el anillo fenilo.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



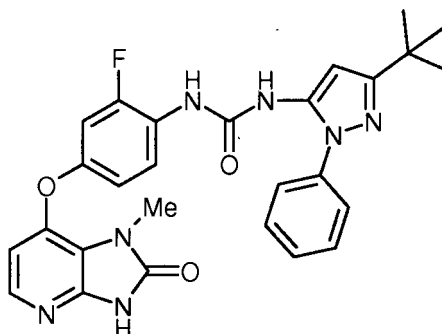
en la que -R^B es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, seleccionado entre compuestos de la siguiente fórmula, y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:

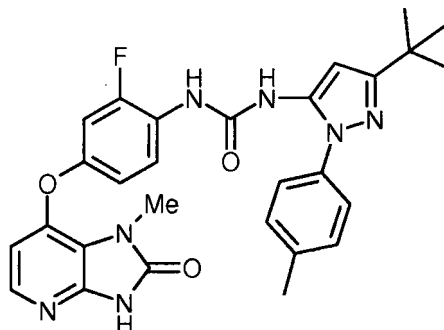


en la que $-R^B$ es independientemente -H, -Me, -F, -Cl, -Br o -I.

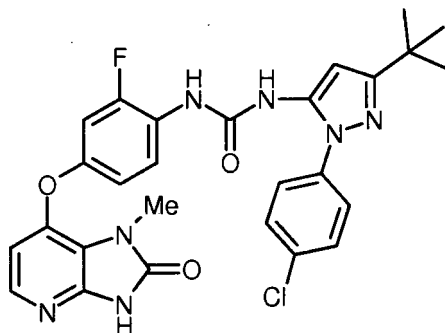
- 5 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que $-R^A$, si está presente, y $-R^B$, si está presente, son independientemente -H.
9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que $-R^A$, si está presente, y $-R^B$, si está presente, son independientemente -Me.
- 10 10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que $-R^A$, si está presente, y $-R^B$, si está presente, son independientemente -F.
11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que $-R^A$, si está presente, y $-R^B$, si está presente, son independientemente -Cl.
- 15 12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



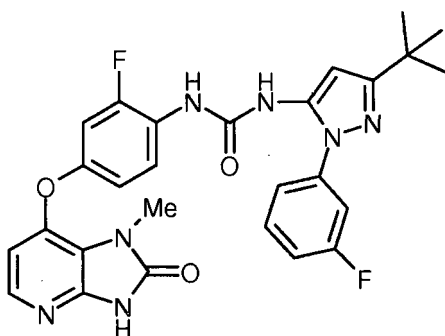
- 20 13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



- 25 14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:

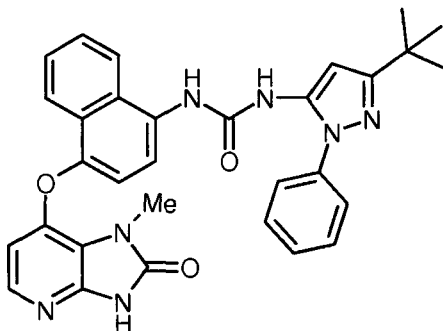


15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



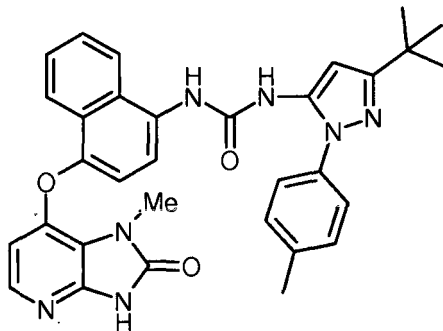
5

16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



10

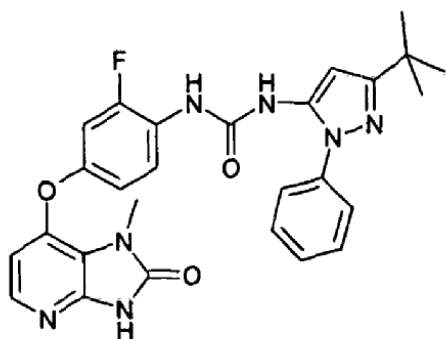
17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, seleccionado entre el siguiente compuesto y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



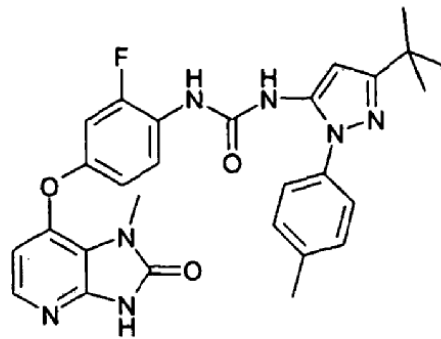
15 18. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

19. Un método de preparación de una composición que comprende mezclar un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.
- 5 20. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en un método de tratamiento por terapia en el organismo de un ser humano o de un animal.
21. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en un método de tratamiento del cáncer.
- 10 22. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en un método de tratamiento de cáncer RAS mutante.
23. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en un método de tratamiento de:
- 15 cáncer pancreático; cáncer tiroideo (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado); cáncer colorrectal; seminoma; síndrome mielodisplásico (SMD); cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado; leucemia (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma; cáncer de vejiga; cáncer de riñón, cáncer de mama; cáncer de ovario; cáncer de conducto biliar o glioma.
- 20 24. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para su uso en un método de tratamiento de:
- 25 cáncer pancreático RAS mutante; cáncer tiroideo RAS mutante (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado); cáncer colorrectal RAS mutante; seminoma RAS mutante; síndrome mielodisplásico (SMD) RAS mutante; cáncer de pulmón RAS mutante (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado RAS mutante; leucemia RAS mutante (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma RAS mutante; cáncer de vejiga RAS mutante; cáncer de riñón RAS mutante, cáncer de mama RAS mutante; cáncer de ovario RAS mutante; cáncer de conducto biliar RAS mutante o glioma RAS mutante.
- 30 25. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.
- 35 26. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer RAS mutante.
27. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de:
- 40 cáncer pancreático; cáncer tiroideo (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado); cáncer colorrectal; seminoma; síndrome mielodisplásico (SMD); cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado; leucemia (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma; cáncer de vejiga; cáncer de riñón, cáncer de mama; cáncer de ovario; cáncer de conducto biliar o glioma.
- 45 28. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de:
- 50 cáncer pancreático RAS mutante; cáncer tiroideo RAS mutante (por ejemplo, folicular; papilar indiferenciado); cáncer colorrectal RAS mutante; seminoma RAS mutante; síndrome mielodisplásico (SMD) RAS mutante; cáncer de pulmón RAS mutante (por ejemplo, adenocarcinoma pulmonar); cáncer de hígado RAS mutante; leucemia RAS mutante (por ejemplo leucemia mielógena aguda (LMA)); melanoma RAS mutante; cáncer de vejiga RAS mutante; cáncer de riñón RAS mutante, cáncer de mama RAS mutante; cáncer de ovario RAS mutante; cáncer de conducto biliar RAS mutante o glioma RAS mutante.

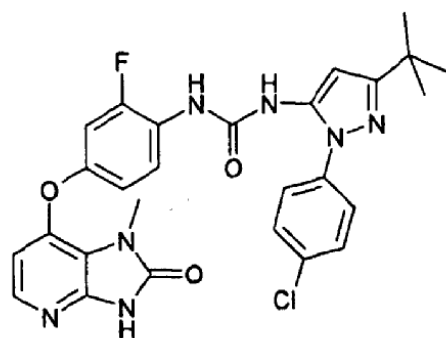
FIGURA 1



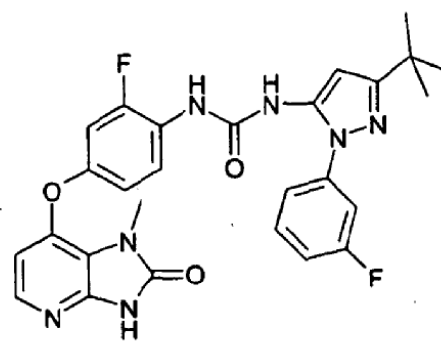
AA-01



AA-02

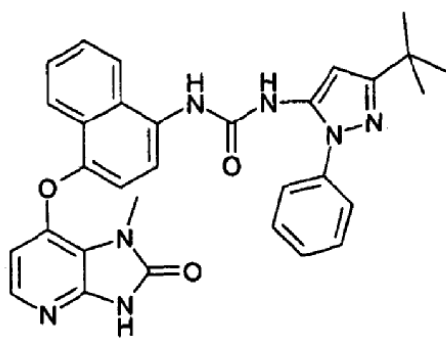


AA-03

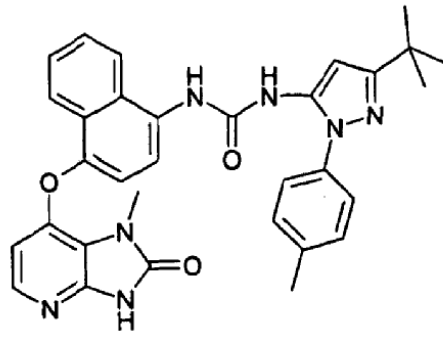


AA-04

FIGURA 2

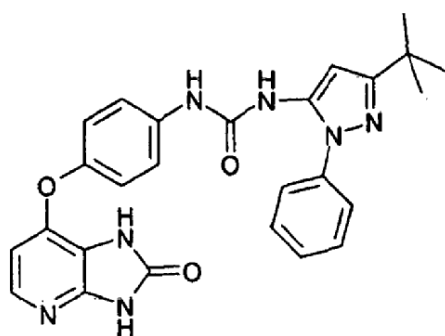


BB-01

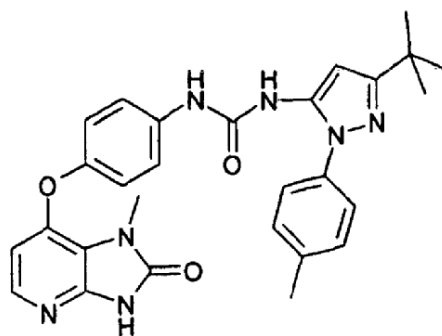


BB-02

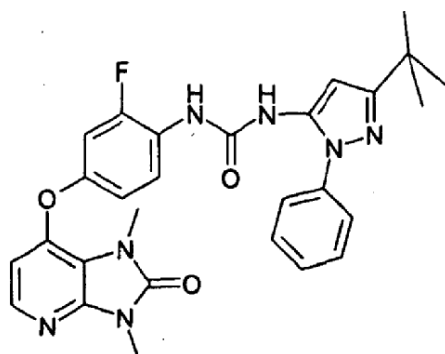
FIGURA 3
(Compuestos de comparación)



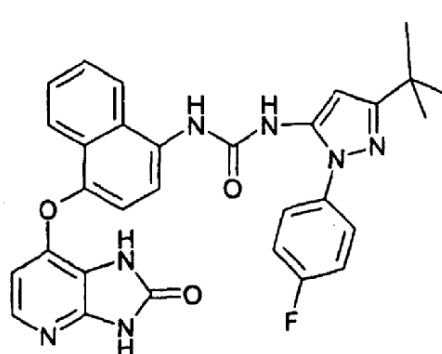
XX-01



XX-02



XX-03



XX-04

FIGURA 4

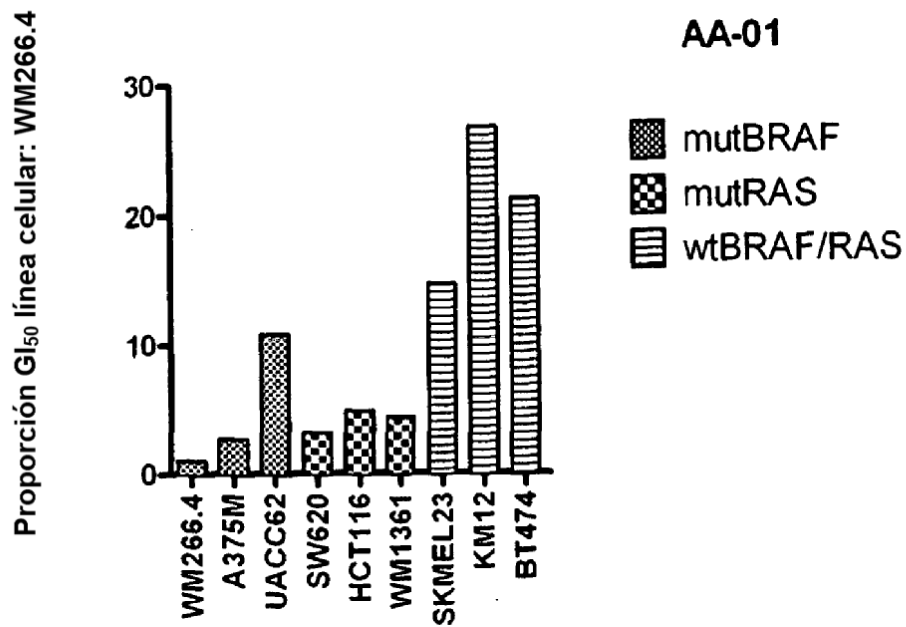


FIGURA 5

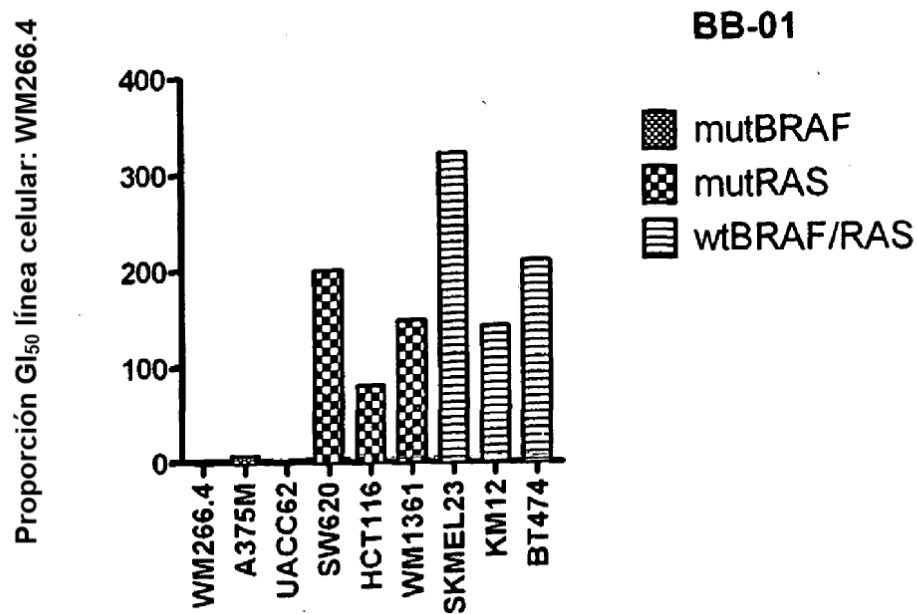


FIGURA 6

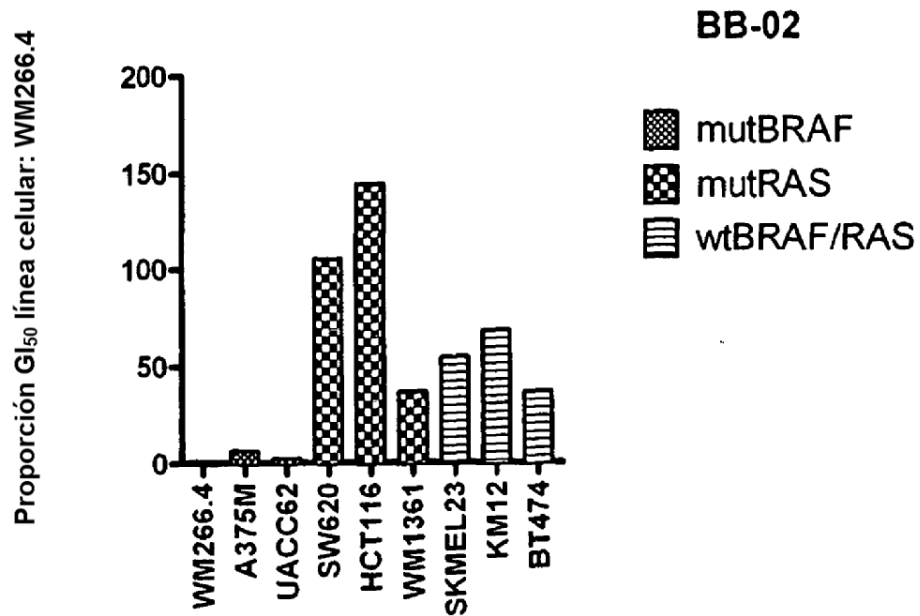


FIGURA 7

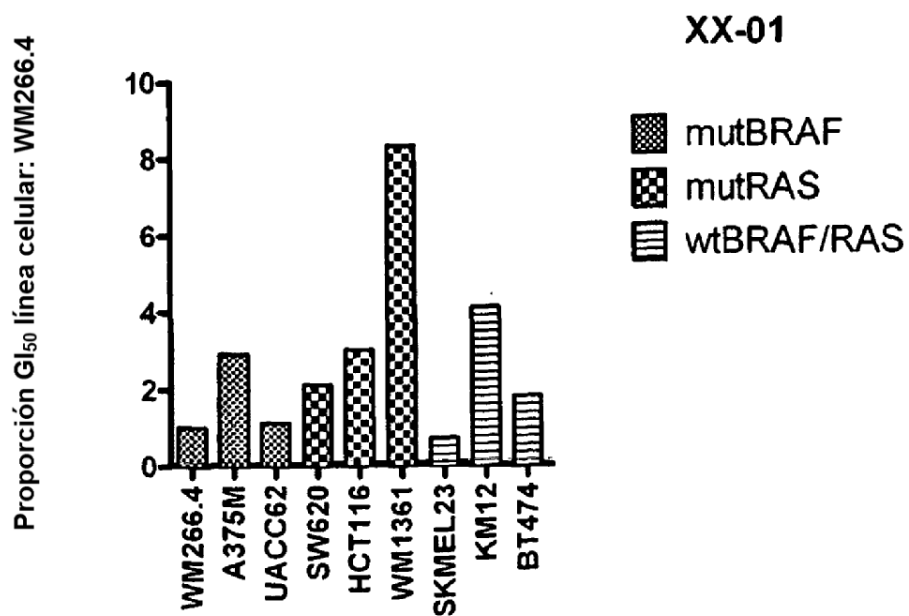


FIGURA 8

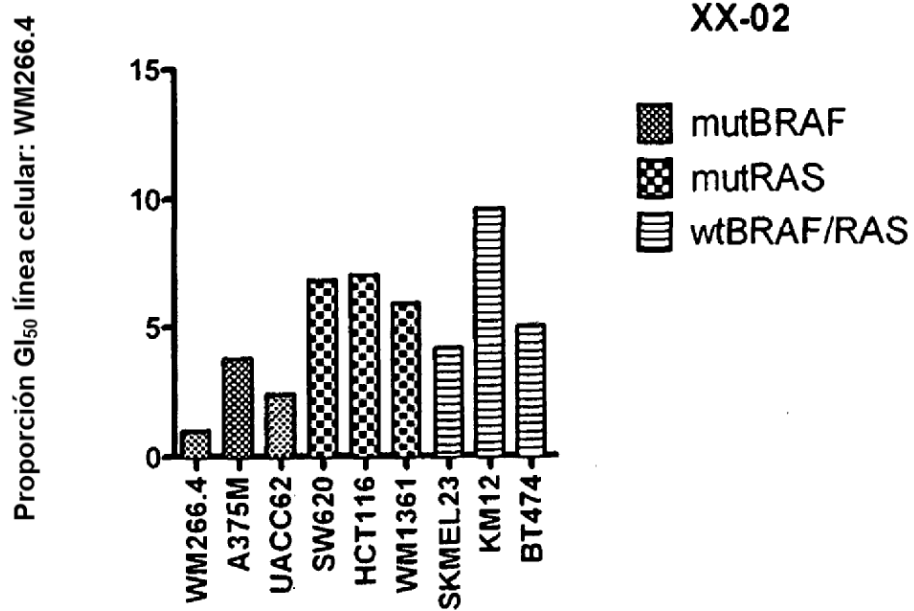


FIGURA 9

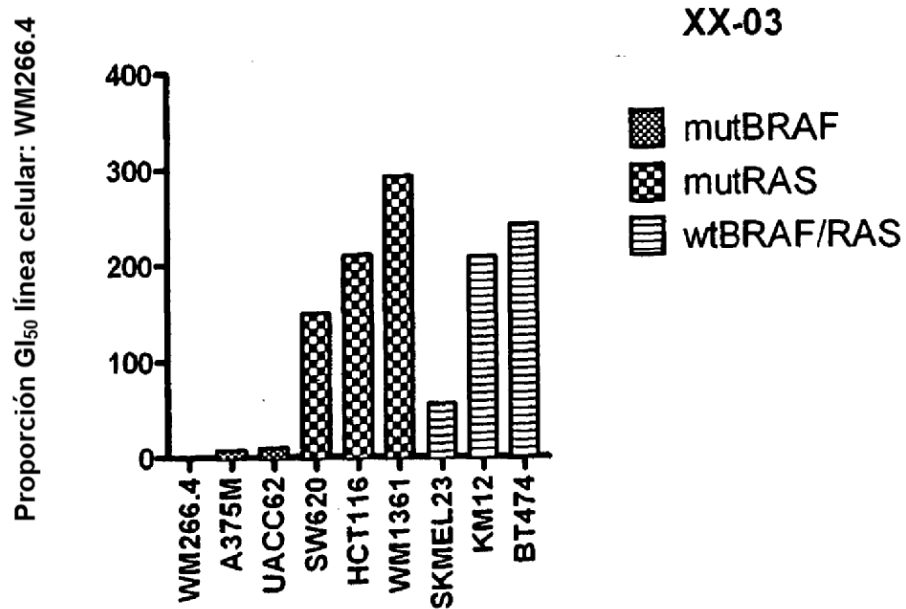


FIGURA 10

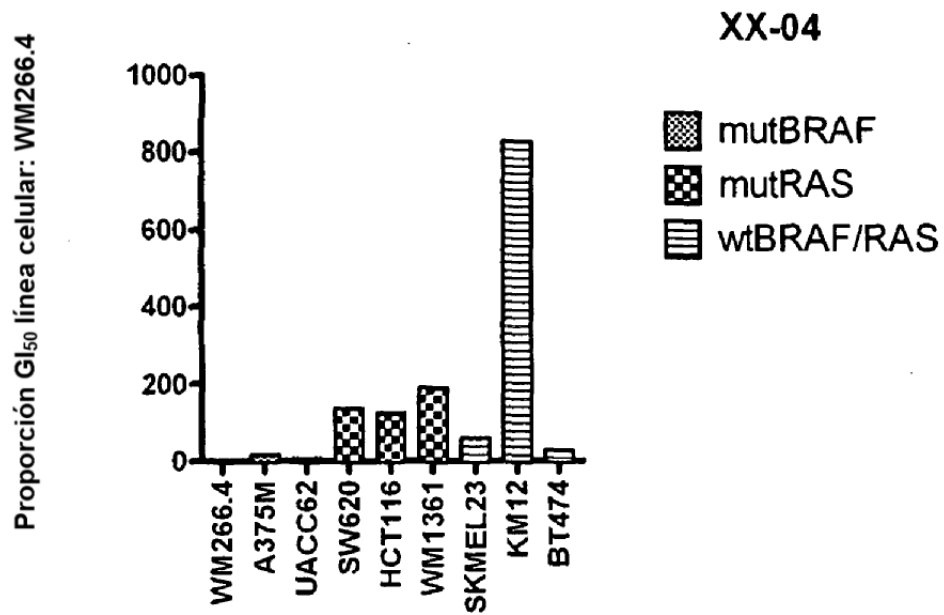


FIGURA 11
(línea celular RAS mutante: SW620)

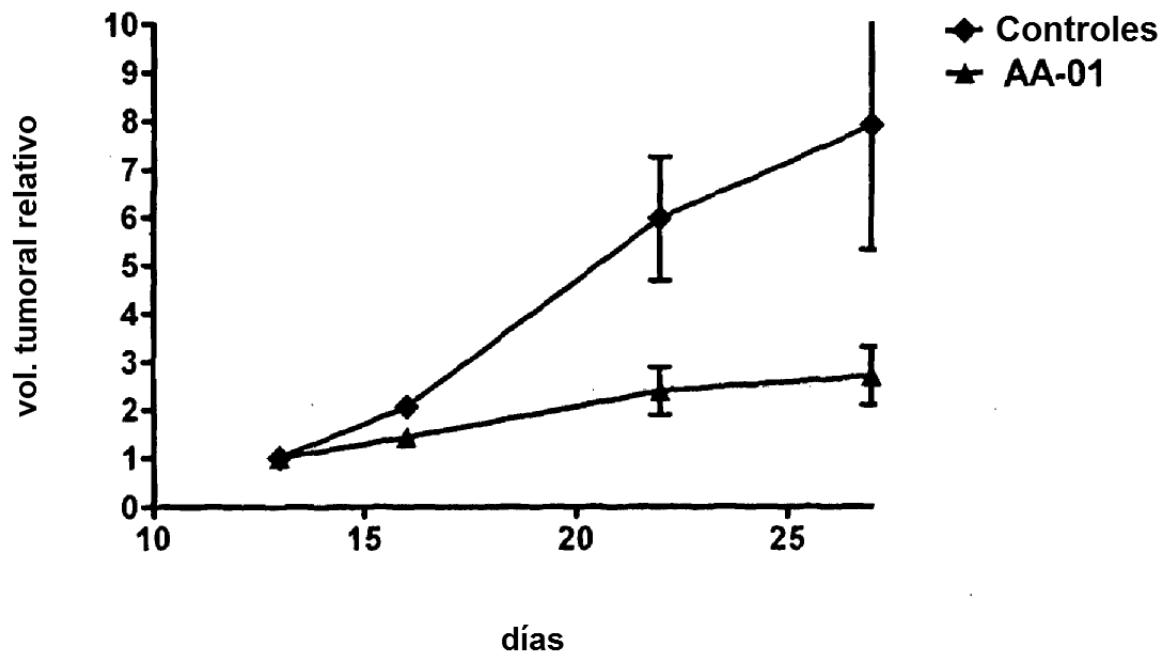


FIGURA 12
(línea celular RAS mutante: SW620)

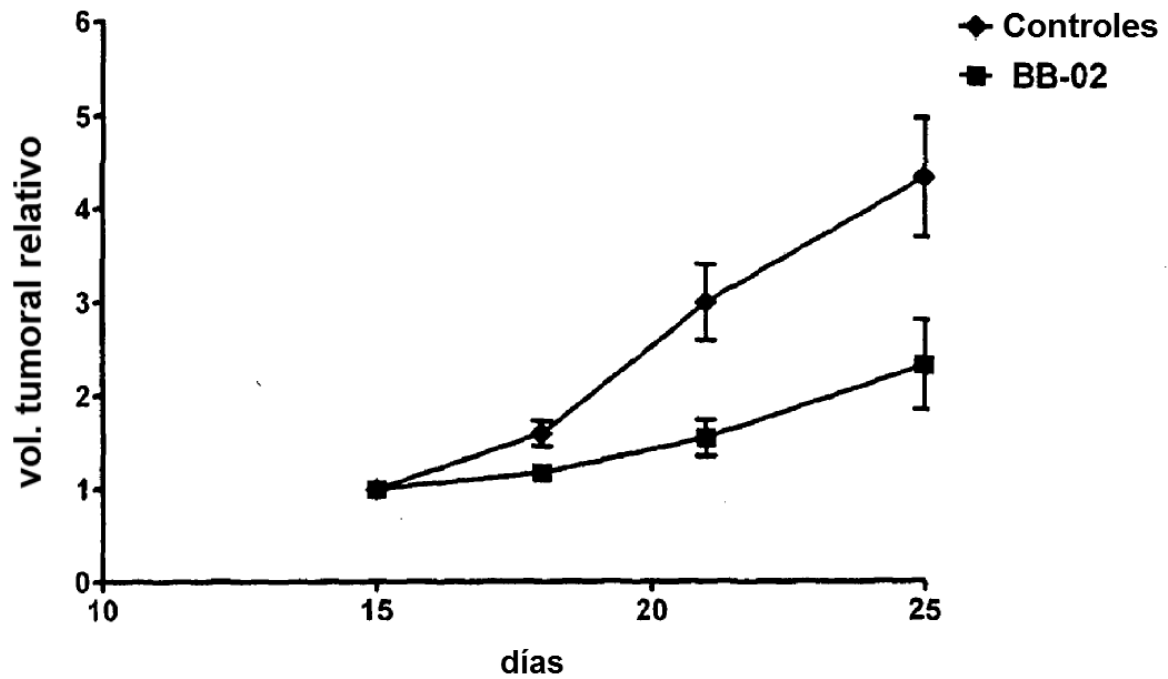


FIGURA 13
(línea celular RAS mutante: A375)

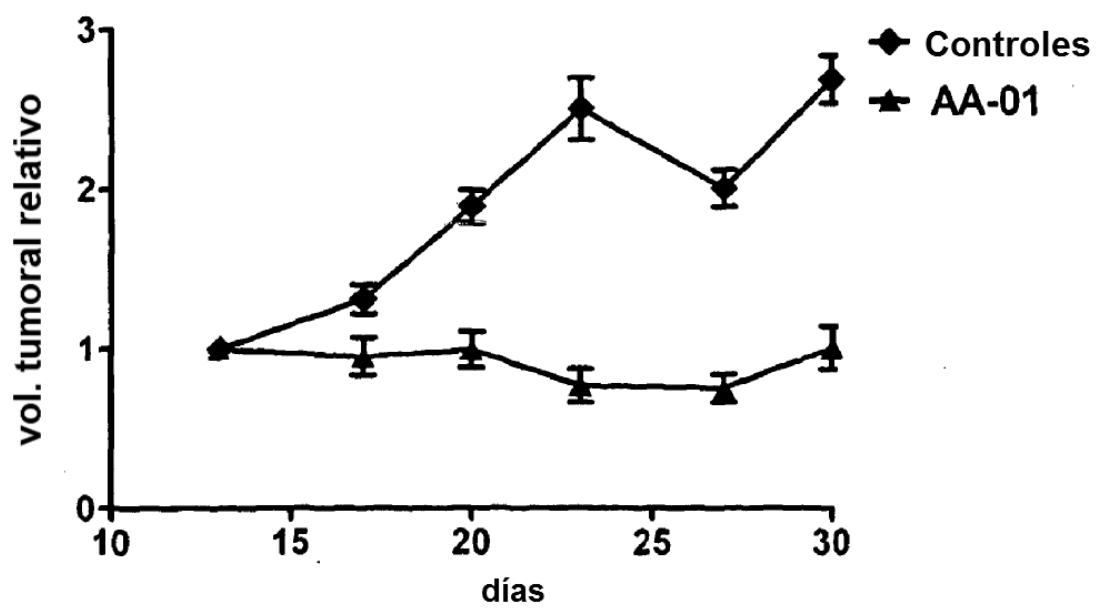


FIGURA 14
(línea celular RAS mutante: A375)

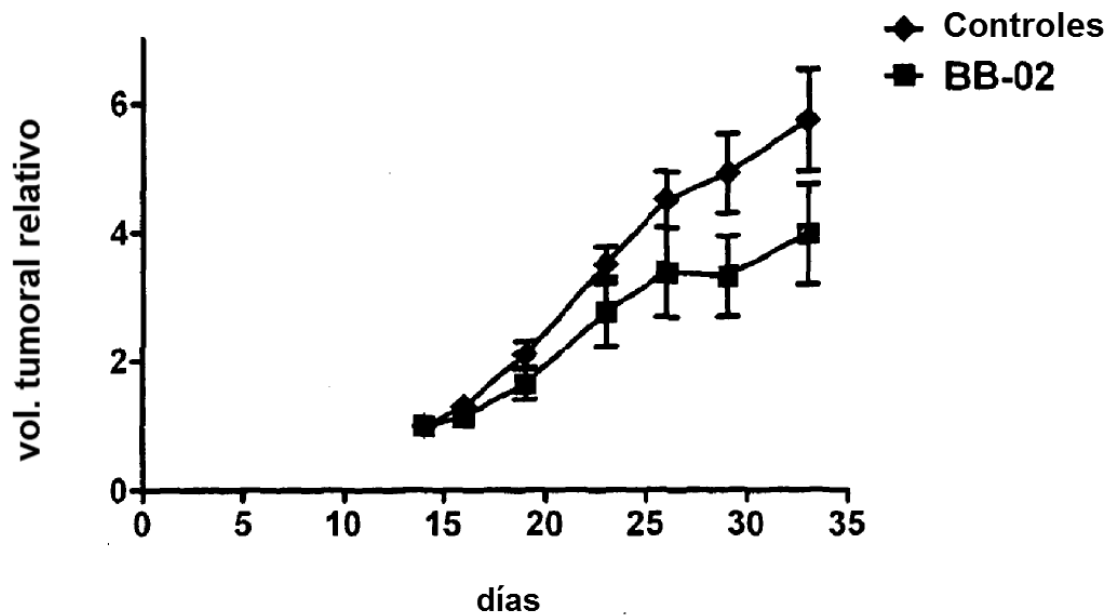


FIGURA 15
(línea celular RAS mutante: SW620)

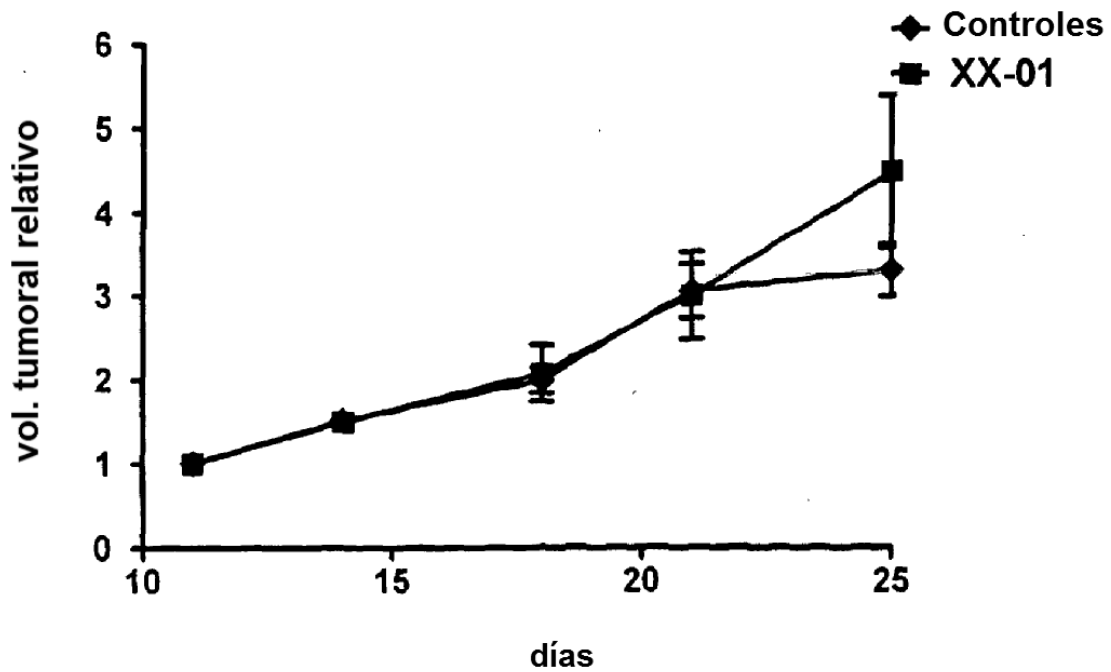


FIGURA 16
(línea celular RAS mutante: SW620)

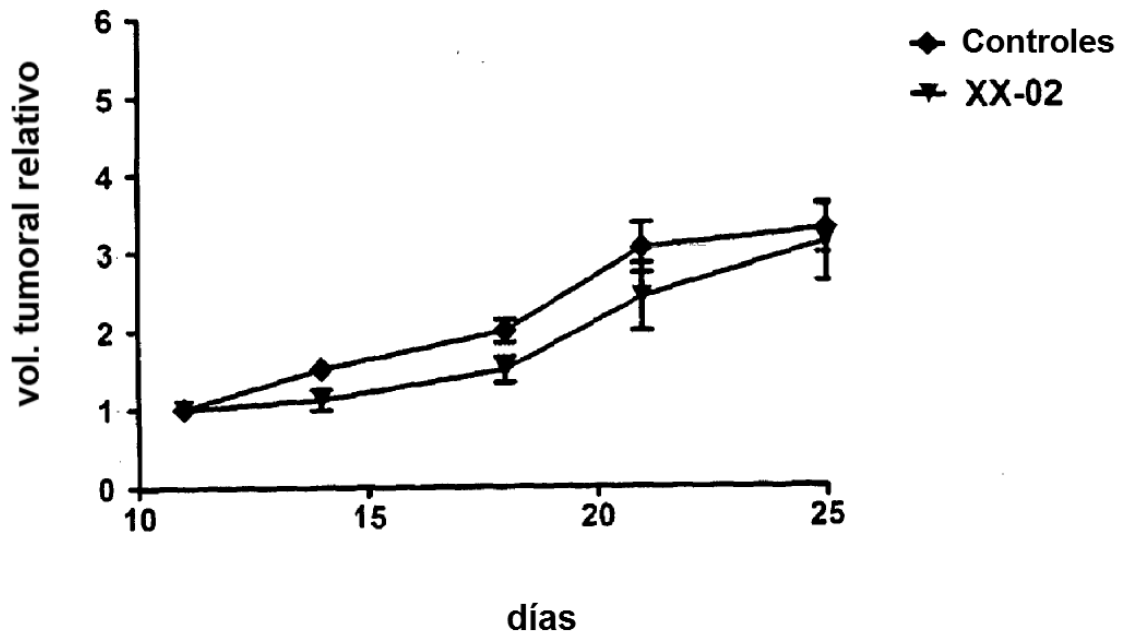


FIGURA 17
(línea celular RAS mutante: SW620)

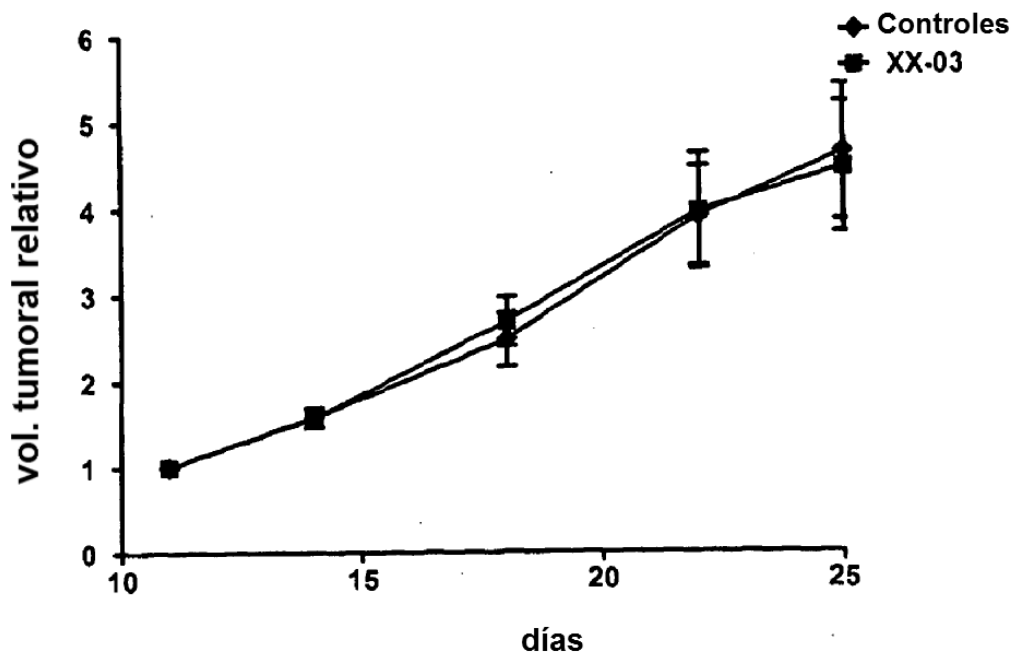


FIGURA 18
(línea celular RAS mutante: SW620)

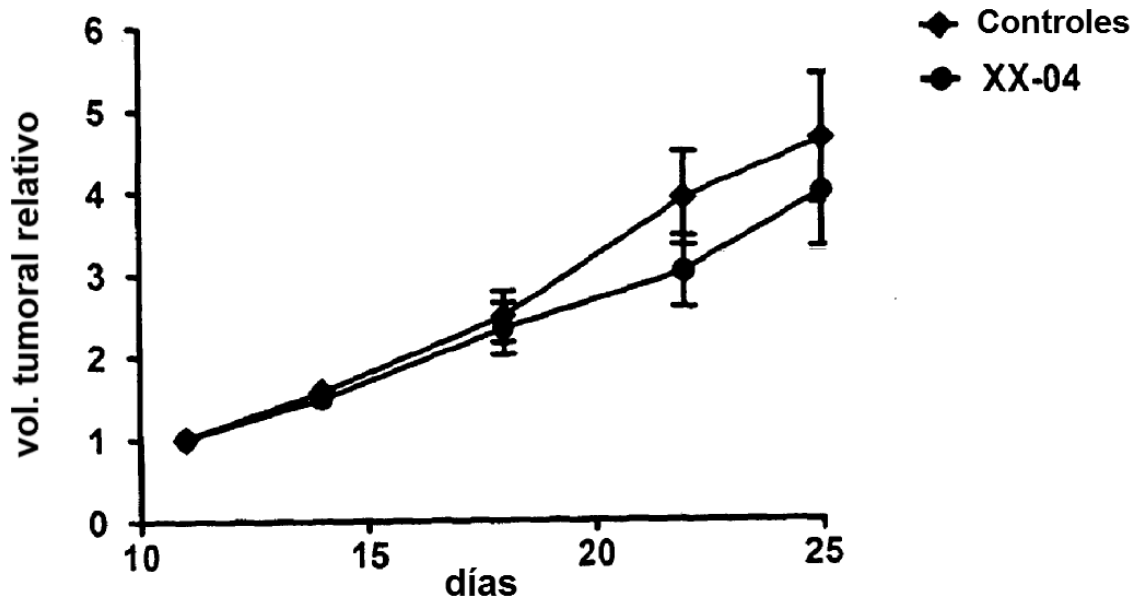


FIGURA 19
(línea celular RAS mutante: A375)

