

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 847**

51 Int. Cl.:

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.04.2007 PCT/US2007/066898**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.10.2007 WO07121484**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.04.2007 E 07797244 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2010528**

54 Título: **Compuestos de benzoxazol y benzotiazol sustituidos en 6-O y métodos para inhibir la señalización CSF-1R**

30 Prioridad:

19.04.2006 US 793517 P

08.03.2007 US 893857 P

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

15.02.2018

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

SUTTON, JAMES, C.;

WIESMANN, MARION;

WANG, WEIBO;

LINDVALL, MIKA, K.;

LAN, JIONG;

RAMURTHY, SAVITHRI;

SHARMA, ANU;

MIEULI, ELIZABETH, J.;

KLIVANSKY, LIANA, M.;

LENAHAN, WILLIAM, P.;

KAUFMAN, SUSAN;

YANG, HONG;

NG, SIMON, C.;

PFISTER, KEITH;

WAGMAN, ALLAN;

SUNG, VICTORIA y

SENDZIK, MARTIN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 654 847 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

Compuestos de benzoxazol y benzotiazol sustituidos en 6-O y métodos para inhibir la señalización CSF-1R

Campo de la invención

5 La presente invención se relaciona con compuestos de benzoxazol y benzotiazol sustituidos en 6-O, como se definen aquí, sus tautómeros, estereoisómeros, solvatos, óxidos, y con sales farmacéuticamente aceptables de ellos. Esta invención se relaciona también con composiciones de los compuestos junto con vehículos farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto, esta invención se relaciona con usos de los compuestos, sea solos o en combinación con por lo menos un agente terapéutico adicional, en la profilaxis o tratamiento del cáncer.

Estado de la técnica

10 CSF-1R es el receptor para M-CSF (factor de estimulación de colonia de macrófago, también denominado CSF-1) y media los efectos biológicos de esta citoquina (Sherr 1985). La clonación del receptor factor-1 de estimulación de colonia (también denominado c-fms) fue descrita por primera vez en Roussel et al., Nature 325:549-552 (1987). En aquella publicación, se mostró que CSF-1R tenía potencial de transformación dependiente de los cambios en la cola terminal en C de la proteína, incluyendo la pérdida de la fosforilación inhibitoria de tirosina 969, la cual liga Cbl y regula de ese modo la regulación hacia abajo del receptor (Lee1999).

15 CSF-1R es un receptor de quinasa de tirosina (RTK) de receptor de transmembrana, de cadena individual, y un miembro de la familia de motivo de inmunoglobulina (Ig) que contiene RTKs, caracterizado por dominios repetidos de Ig en la porción extracelular del receptor. El dominio de quinasa de tirosina de proteína intracelular es interrumpido por un dominio inserto único que está presente también en los otros miembros de familia de clase III relacionados con RTK, que incluyen los receptores de factor de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFR), receptor de factor de crecimiento de célula de tallo (kit c) y receptor de citoquina similar a fins (FLT3). A pesar de la homología estructural entre esta familia de receptores de factor de crecimiento, ellos tienen diferentes funciones específicas de tejido. CSF-1R se expresa principalmente en células del linaje monocítico y en el tracto reproductivo femenino y placenta. Adicionalmente, se han reportado expresiones de CSF-1R en células de Langerhans en la piel, un subconjunto de células musculares suaves (Inaba 1992), células B (Baker 1993) y microglía (Sawada 1990).

20 Los principales efectos biológicos de señalización de CSF-1R son la diferenciación, proliferación, migración y supervivencia de los macrófagos y osteoclastos precursores, del linaje monocítico. La activación de CSF-1R es mediada por su único ligando, M-CSF. La unión de M-CSF a CSF-1R induce la formación de homodímeros y la activación de la quinasa mediante fosforilación de tirosina (Stanley 1997). La señalización adicional es mediada por la subunidad p85 de PI3K y Grb2 que se conecta a las rutas PI3K/AKT y Ras/MAPK, respectivamente. Estas dos importantes rutas de señalización pueden regular la proliferación, supervivencia y apoptosis. Otras moléculas de señalización que unen el dominio intracelular fosforilado de CSF-1R incluyen STAT1, STAT3, PLC γ , y Cbl (Bourette 2000).

25 La señalización de CSF-1R tiene un papel fisiológico en las respuestas inmunes, en la reestructuración de huesos y en el sistema reproductivo. Los animales bloqueados genéticamente han mostrado tener, sea para M-CSF-1 (ratón op/op; Pollard 1996) o para CSF-1R (Dai 2002), macrófagos de tejido osteopetróticos, hematopoyéticos, y fenotipos reproductivos consistentes con un papel para CSF- 1R en los respectivos tipos de célula.

30 El reciente éxito de agentes terapéuticos focalizados, tales como Herceptin® y Avastin®, ha enfatizado la importancia en el desarrollo de fármacos menos promiscuos "más limpios" con un mecanismo de acción más específico. Estos fármacos pueden minimizar eventos adversos, son más predecibles, dan a los facultativos mayor flexibilidad en sus tratamientos y suministran a los investigadores mejor entendimiento de un objetivo particular. Adicionalmente, la terapia focalizada puede permitir tratamiento de indicaciones múltiples afectadas por la misma ruta de señalización, con menos toxicidades y potencialmente mayor facilidad de manejo. (BioCentury, V. 14(10) Feb, 2006). La inhibición de una quinasa individual, tal como CSF-1R, que está integrada dentro de una ruta asociada con cáncer u otras enfermedades, puede modular de manera efectiva también quinasas corriente abajo, afectando de ese modo la totalidad de la ruta. Sin embargo, los sitios activos de dominios de quinasa de proteína humana 491 son altamente conservados, lo cual hace un formidable desafío el diseño de inhibidores selectivos (Cohen 2005). Por ejemplo el documento (WO2005/073224) divulga compuestos que son efectivos para la profilaxis y tratamiento de enfermedades mediadas por HGF, por ejemplo enfermedades y otras dolencias o condiciones que involucran cáncer y similares.

Resumen de la invención

Existe una necesidad continua por compuestos que inhiban la proliferación celular, inhiban el crecimiento de tumores, traten el cáncer, modulen la detención del ciclo celular y/o inhiban específicamente moléculas tales como

CSF-1R, y por formulaciones farmacéuticas y medicamentos que contengan tales compuestos. También existe una necesidad por compuestos con inhibición selectiva de CSF-1R. También existe una necesidad por compuestos para el uso en métodos de administración de tales compuestos, formulaciones farmacéuticas y medicamentos, a pacientes o sujetos que lo necesitan.

5 Una realización se dirige a compuestos seleccionados de entre el grupo definido en la reivindicación 1, estereoisómeros, tautómeros, solvatos, óxidos, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

Otra realización se dirige al compuesto definido en la reivindicación 2 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

10 Otra realización se dirige al compuesto definido en la reivindicación 3 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

Otra realización se dirige al compuesto definido en la reivindicación 4 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

15 También se divulga un compuesto que inhibe CSR-1R, seleccionado de entre el grupo definido en la reivindicación 1 o un estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido, o sal que él farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de un desorden mediado por CSF-1R, como se define aquí.

20 En una realización más particular, dicho compuesto no inhibe sustancialmente la quinasa Raf. En una realización más particular, dicho compuesto inhibe preferencialmente CSF-1R sobre la quinasa Raf. En una realización más particular, dicho compuesto inhibe quinasa Raf a un IC_{50} de más de aproximadamente 1 μ M. En una realización más particular, dicho compuesto inhibe CSF-1R a un IC_{50} de menos de aproximadamente 1 μ M. Todavía más particularmente, dicho compuesto inhibe CSF-1R a un IC_{50} de menos de aproximadamente 0.1 μ M.

Descripción detallada

A través de este documento, el texto se refiere a diferentes realizaciones de los presentes compuestos, composiciones y usos.

Definiciones

25 A menos que se defina específicamente de otro modo, los términos usados aquí se definen abajo.

"Óxido" se refiere a productos que resultan de la oxidación de uno más heteroátomos. Los ejemplos incluyen óxidos en N, sulfóxidos, y sulfonas. "Solvato" o "solvatos" se refiere a compuestos o una sal de ellos que están unidos a una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un solvente. Los solventes preferidos son volátiles, no tóxicos y/o aceptables para administración a humanos en cantidades traza. Los solvatos adecuados incluyen agua.

30 "Estereoisómero" o "estereoisómeros" se refiere a compuestos que difieren en la quiralidad de uno o más estereocentros. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereoisómeros.

35 "Tautómero" se refiere a formas alternas de un compuesto, que difieren en la posición de un protón, tales como tautómeros enol-ceto e imina-enamina, o a las formas tautoméricas de grupos heteroarilo que contienen un átomo de anillo unido a un fragmento -NH- de anillo y a un fragmento =N- de anillo, tales como pirazoles, imidazoles, bencimidazoles, triazoles, y tetrazoles.

40 "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto, cuyas sales se derivan de una variedad de iones contrarios orgánicos e inorgánicos, bien conocidos en la técnica y que incluyen, a modo de ejemplo solamente, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio y tetraalquilamonio; y cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos, tales como cloruro, bromuro, tartrato, mesilato, acetato, maleato y oxalato. El término también incluye sales farmacéuticamente aceptables de estereoisómeros, tautómeros, del compuesto.

"Paciente" se refiere a mamíferos e incluye mamíferos humanos y no humanos.

45 "Tratar" o "tratamiento" de una enfermedad en un paciente se refiere a 1) prevenir la ocurrencia de la enfermedad en un paciente que está predispuesto o aún no despliega síntomas de la enfermedad; 2) inhibición de la enfermedad o detención de su desarrollo; o 3) alivio o causa de la regresión de la enfermedad.

Inhibición "selectiva" se refiere a un compuesto, composición o quimiotipo que inhibe preferencialmente un objetivo o clase de objetivos particulares. La referencia a "inhibición selectiva de CSF-1R" indica la inhibición preferencial de CSF-1R y opcionalmente en receptores similares a quinasa tales como PDGFR. En algunas realizaciones, la inhibición selectiva de CSF-1R se refiere a la inhibición preferencial de CSF-1R sobre la quinasa Raf. No se

pretende que inhibición "selectiva" "focalizada" "específica" o "preferencial" indique ausencia completa de actividad inhibitoria respecto a todas las otras quininas o receptores.

"Inhibidor de CSF-1R" se refiere a un compuesto que puede inhibir CSF-1R. Preferiblemente, un inhibidor CSF-1R es selectivo de CSF-1R sobre otros objetivos. En una realización, un inhibidor CSF-1R tiene inhibición selectiva de CSF-1R sobre quinasa Raf. En una realización preferida, tal inhibición selectiva se refiere a una preferencia de unión de por lo menos 2:1 de un compuesto de esta invención a CSF-1R, respecto a quinasa Raf, más preferiblemente por lo menos 5:1, e incluso más preferiblemente por lo menos 10:1.

Una realización está dirigida a los compuestos seleccionados de entre el grupo definido en la reivindicación 1, estereoisómeros, tautómeros, solvatos, u óxidos, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

Otra realización está dirigida al compuesto definido en la reivindicación 2 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

Otra realización está dirigida al compuesto definido en la reivindicación 3 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

Otra realización está dirigida al compuesto definido en la reivindicación 4 o un solvato, óxido, o sales de ellos farmacéuticamente aceptables.

En otras realizaciones, se suministra un compuesto de las tablas 2 o 3 o un estereoisómero, tautómero, solvato, óxido, o sal de ellos farmacéuticamente aceptable.

Para aquellos expertos en la técnica, será evidente también que los compuestos de la invención de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 o sus estereoisómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables, pueden ser sometidos a la formación de tautómeros y pueden por ello existir en varias tautoméricas en las que un protón de un átomo de una molécula se desplaza a otro átomo y en consecuencia se reorganizan los enlaces químicos entre los átomos de las moléculas. Véase por ejemplo, March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures*, cuarta edición, John Wiley & Sons, páginas 69-74 (1992).

Las realizaciones preferidas, incluyendo los compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o sus tautómeros, así como las sales farmacéuticamente aceptables, pueden comprender átomos de carbono con sustitución asimétrica. Tales átomos de carbono con sustitución asimétrica pueden dar como resultado los compuestos de las realizaciones preferidas que existen como enantiómeros, y otras formas de estereoisómero que pueden ser definidos, en términos de estereoquímica absoluta, tales como en las formas (R) o (S). Como resultado, se contemplan todos los tales isómeros posibles, estereoisómeros individuales en sus formas ópticamente puras, mezclas de ellos, mezclas racémicas (o "racematos"), mezclas de diastereoisómeros, así como diastereoisómeros individuales de los compuestos de las realizaciones preferidas. Los términos de configuración "S" y "R", como se usan aquí, son definidos por IUPAC 1974 RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY, *Pure Appl. Chem.* 45:13-30 (1976). Los términos α y β son empleados para posiciones en el anillo de compuestos cíclicos. El lado α del plano de referencia es aquel lado sobre el cual está el sustituyente preferido en la posición numerada más baja. A aquellos sustituyentes ubicados en el lado opuesto del plano de referencia se asigna el descriptor β . Debería notarse que este uso difiere de aquel de los estereoprogenitores cíclicos, en los cuales " α " indica "bajo el plano" y denota configuración absoluta. Como se usan aquí, los términos de configuración α y β , están definidos por el CHEMICAL ABSTRACTS INDEX GUIDE-APPENDIX IV (1987) parágrafo 203.

Existen 3 mecanismos diferentes por los cuales la señalización de CSF-1R está involucrada probablemente en el crecimiento tumoral y metástasis. El primero es que se ha hallado expresión de ligando de CSF y receptor en células de tumor que se originan en el sistema reproductivo femenino (mama, ovario, endometrio, cervical) (Scholl 1994; Kacinski 1997; Nagan 199; Kirma 2007) y la expresión ha sido asociada con crecimiento xenoinjerto de cáncer de mama así como un pronóstico pobre en pacientes con cáncer de mama. Se vieron dos mutaciones puntuales en CSF-1R en aproximadamente 10-20% de pacientes de leucemia mielocítica aguda, leucemia mielocítica crónica y mielodisplasia probados en un estudio, y se encontró que una de las mutaciones interrumpía el retorno del receptor (Ridge 1990). Sin embargo, la incidencia de las mutaciones no pudo ser confirmada en estudios posteriores (Abu-Duhier 2003). También se hallaron mutaciones en algunos casos de cáncer hepatocelular (Yang 2004) y mielofibrosis idiopática (Abu-Duhier 2003).

Pueden ocurrir tumores de células de sinovitis vilonodular pigmentada (PVNS) y tenosinovial gigantes ¿? (TGCT) como un resultado de una translocación que funde el gen de M-CSF a un gen COL6A3 de colágeno y da como resultado la sobreexpresión de M-CSF (West 2006). Se propone que un efecto de paisaje sea responsable de la masa resultante de tumor, que consiste en células monocíticas atraídas por células que expresan M-CSF. TGCTs son tumores más pequeños que pueden ser removidos con relativa facilidad de los dedos, donde ocurren la

mayoría las veces. PVNS es más agresivo en la medida en que puede repetirse en las articulaciones grandes y no es controlado tan fácilmente por cirugía.

El segundo mecanismo se basa en el bloqueo de la señal a través de M-CSF/CSF-1R en sitios metastásicos en huesos, que induce osteoclastogénesis, resorción de huesos y lesiones osteolíticas de huesos. Los cánceres de mama, riñón y pulmón son ejemplos de cánceres de los que se ha hallado hacen metástasis a los huesos y causan enfermedad osteolítica de hueso, dando como resultado complicaciones en el esqueleto. El M-CSF liberado por las células de tumor y estroma induce la diferenciación de progenitores monocíticos mieloides hematopoyéticos a osteoclastos maduros, en colaboración con el activador de receptor de RANKL de ligando kappa-B de factor nuclear. Durante este proceso, M-CSF actúa como un factor permisivo dando la señal de supervivencia a los osteoclastos (Tanaka 1993). Es probable que la inhibición de actividad de quinasa CSF-1R durante la diferenciación y maduración de osteoclasto con un inhibidor de molécula pequeña, prevenga la actividad desbalanceada de osteoclastos que causan enfermedad osteolítica y los eventos esqueléticos relacionados asociados en enfermedad metastásica. Mientras el cáncer de mama, pulmón y mieloma múltiple dan como resultado típicamente lesiones osteolíticas, la metástasis al hueso en cáncer de próstata tiene inicialmente una apariencia osteoblástica en la cual el aumento en la actividad de formación de hueso da como resultado "hueso tejido" el cual es diferente de la estructura laminar típica del hueso normal. Durante el progreso de la enfermedad, las lesiones del hueso despliegan un componente osteolítico significativo así como elevados niveles de suero de resorción de hueso y sugiere que la terapia contra la resorción, podría ser útil. Los bisfosfonatos han mostrado inhibir la formación de lesiones osteolíticas y reducir el número de eventos relacionados con el esqueleto sólo en hombres con cáncer metastásico de próstata reacio a las hormonas, pero a la fecha en este punto su efecto sobre lesiones osteoblásticas es controversial y los bisfosfonatos no han sido beneficiosos en la prevención de metástasis de huesos o cáncer de próstata sensible a la hormona. El efecto de agentes contra la resorción en cáncer de próstata mixto osteolítico/osteoblástico está siendo estudiado todavía en la clínica (Choueiri 2006; Vessella 2006).

El tercer mecanismo se basa en la reciente observación según la cual los macrófagos asociados a tumor (TAM) hallados en tumores sólidos de cáncer de mama, próstata, ovario y cervical tienen correlación con un pronóstico pobre (Bingle 2002; Pollard 2004). Los macrófagos son reclutados al tumor por M-CSF y otras quimioquinas. Los macrófagos pueden entonces contribuir al progreso del tumor, a través de la secreción de factores angiogénicos, proteasas y otros factores de crecimiento y citoquinas, y pueden ser bloqueados mediante inhibición de la señalización de CSF-1R. Recientemente se ha mostrado por parte de Zins et al (Zins 2007) que la expresión de siARN de factor alpha de necrosis de tumor (TNF α), M-CSF o la combinación de ambos reduciría el crecimiento de tumor en un modelo xenoinjerto de ratón, entre 34% y 50% después de inyección intratumoral del respectivo siARN al xenoinjerto. La focalización de siARN al TNF α secretado por células SW620 humanas redujo el M-CSF de ratón y condujo a reducción de macrófagos en el tumor. Adicionalmente, el tratamiento de xenoinjertos de tumor MCF7 con un fragmento que liga antígeno dirigido contra el anticuerpo M-CSF, dio como resultado una inhibición de crecimiento de tumor de 40%, invirtió la resistencia a los quimioterapéuticos y mejoró la supervivencia de los ratones cuando fue dado en combinación con quimioterapéuticos (Paulus 2006).

Los TAMs son sólo un ejemplo de una unión emergente entre inflamación crónica y cáncer. Hay evidencia adicional de un vínculo entre inflamación y cáncer, en la medida que muchas enfermedades crónicas están asociadas con un aumento en el riesgo de cáncer, los cánceres surgen en sitios de inflamación crónica, los mediadores químicos de inflamación son hallados en muchos cánceres; la eliminación de los mediadores de inflamación celulares o químicos inhibe el desarrollo de cánceres experimentales y el uso de agentes antiinflamatorios en el largo plazo reduce el riesgo de algunos cánceres. Existe una vinculación con el cáncer, para varias condiciones inflamatorias, entre ellas gastritis inducida por *H. pylori*, con cáncer gástrico, esquistosomiasis con cáncer de la vejiga, HHV8 con sarcoma de Kaposi, endometriosis con cáncer de ovario y prostatitis con cáncer de próstata (Balkwill 2005). Los macrófagos son células clave en la inflamación crónica y responden de manera diferencial a su microambiente. Existen dos tipos de macrófagos que son considerados extremos en un continuo de estados funcionales: los macrófagos M1 están involucrados en reacciones de tipo 1. Estas reacciones involucran la activación de productos microbianos, y la consecuente muerte de microorganismos patógenos, que da como resultado productos intermedios con oxígeno reactivo. Al otro lado del extremo están los macrófagos M2 involucrados en reacciones de tipo 2 que promueven la proliferación celular, modulan la inflamación e inmunidad y promueven la reorganización, angiogénesis y reparación de tejidos (Mantovani 2004). La inflamación crónica que da como resultado neoplasia establecida, está asociada usualmente con macrófagos M2. Una citoquina fundamental que media reacciones inflamatorias es TNF- α que, fiel a su nombre, puede estimular inmunidad antitumoral y necrosis hemorrágica a elevadas dosis, pero que se ha hallado recientemente también es expresada por células de tumor y actúa como un promotor de tumor (Zins 2007; Balkwill 2006). El papel específico de los macrófagos respecto al tumor requiere todavía un mejor entendimiento, incluyendo la dependencia potencial espacial y temporal sobre su función y la relevancia frente a tipos específicos de tumor.

También se divulga un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en el tratamiento de periodontitis, histiocitosis X, osteoporosis, enfermedad de Paget de huesos (PDB), pérdida de

huesos debida a terapia de cáncer, osteólisis periprostética, osteoporosis inducida por glucocorticoides, artritis reumatoide, artritis psirática, osteoartritis, artritis inflamatoria, e inflamación.

Rabello 2006 ha demostrado que SNPs en los genes CSF1 exhibió una asociación positiva con periodontitis agresiva: una enfermedad inflamatoria de los tejidos periodontales, que causa la pérdida de dientes debida a la resorción del hueso alveolar.

Histiocitosis X (también llamada histiocitosis de célula de Langerhans, LCH) es una enfermedad proliferativa de células dendríticas de Langerhans que parece diferenciarse dentro de osteoclastos en lesiones LCH de hueso y extraóseas. Las células de Langerhans se derivan de monocitos circulantes (Ginoux 2006). Se halló que el aumento en los niveles de M-CSF que se ha medido en suero y lesiones tenía correlación con la severidad de la enfermedad (da Costa 2005). La enfermedad ocurre primariamente en una población de paciente pediátrico y, cuando la enfermedad se torna sistémica o es recurrente, tiene que ser tratada con quimioterapia.

La patofisiología de osteoporosis es mediada por la pérdida de osteoblastos que forman el hueso y el aumento de la resorción del hueso dependiente de osteoclastos. Cenci et al. han descrito datos de soporte, mostrando que una inyección de anticuerpo anti-M-CSF preserva la densidad de hueso e inhibe la resorción del hueso en ratones ovariectomizados (Cenci 2000). Recientemente se identificó un vínculo potencial entre la pérdida de hueso después de la menopausia, debida a la deficiencia de estrógeno y se halló que la presencia de células T que producen TNF alpha afectaba el metabolismo del hueso (Roggia 2004). Un posible mecanismo podría ser la inducción *in vivo* de MCSF por TNF alpha. Se confirmó un papel importante para M-CSF en osteoclastogénesis inducida por TNF-alpha, por el efecto de un anticuerpo dirigido contra el inhibidor M-CSF que bloquea la osteólisis inducida por TNF alpha en ratones y haciendo así los inhibidores de señalización de CSF-1R objetivos potenciales para la artritis inflamatoria (Kitaura 2005).

La enfermedad de huesos de Paget (PDB) es el segundo desorden del metabolismo de huesos más común, después de la osteoporosis, en el cual las anomalías focales de aumento del retorno de huesos condujeron a complicaciones tales como dolor de huesos, deformidad, fracturas patológicas y sordera. Se han identificado mutaciones en cuatro genes, que regulan la función normal de osteoclasto y predisponen a los individuos a PDB y desórdenes relacionados: mutaciones de inserción en TNFRSF11A, el cual codifica el activador de receptor de factor nuclear (NF) kappaB (RANK)- un regulador crítico de la función de osteoclasto, mutaciones de inactivación de TNFRSF11B que codifica osteoprotegerina (un receptor señuelo para ligando RANK), mutaciones del gen 1 de sequestosoma 1 (SQSTM1), el cual codifica una importante proteína de andamio en la ruta NFkappaB y mutaciones en el gen de proteína que contiene valosina (VCP). Este gen codifica VCP, el cual tiene un papel en la focalización del inhibidor de NFkappaB para degradación por el proteasoma (Daroszezwska, 2006). Los inhibidores focalizados de CSF-1R suministran una oportunidad para bloquear la desregulación de la señalización de RANKL indirectamente y añaden una opción de tratamiento adicional a los bisfosfonatos usados actualmente.

La pérdida de hueso inducida por terapia de cáncer, especialmente en pacientes con cáncer de mama y próstata, es una indicación adicional donde un inhibidor focalizado de CSF-1R podría prevenir la pérdida de hueso (Lester 2006). Con el pronóstico mejorado para el cáncer temprano de mama, las consecuencias de largo plazo de las terapias de ayuda se tornan más importantes en la medida que algunas de las terapias que incluyen quimioterapia, irradiación, inhibidores de aromatasa y ablación de ovario afectan el metabolismo de los huesos, reduciendo la densidad mineral del hueso, dando como resultado un aumento en el riesgo de osteoporosis y fracturas asociadas (Lester 2006). El equivalente a la terapia adyuvante de inhibidor de aromatasa en cáncer de mama es la terapia de ablación andrógena en cáncer de próstata, que conduce a pérdida de densidad mineral del hueso y aumenta de manera significativa el riesgo de fracturas relacionadas con osteoporosis (Stoch 2001).

Es probable que la inhibición focalizada de señalización de CSF-1R sea benéfica en otras indicaciones, así como cuando los tipos de célula objetivo incluyen osteoclastos y macrófagos, por ejemplo tratamiento de complicaciones específicas en respuesta al reemplazo de articulaciones, como una consecuencia de la artritis reumatoide. La falla en el implante debida a pérdida periprostética de hueso y consecuente pérdida de prótesis es una complicación mayor del reemplazo de articulaciones y requiere la repetición de cirugía, con elevadas cargas socioeconómicas para el paciente individual y el sistema de cuidado de la salud. A la fecha, no hay terapia con fármacos aprobada para prevenir o inhibir la osteólisis periprostética (Drees 2007).

La osteoporosis inducida por glucocorticoides (GIOP) es otra indicación en la cual un inhibidor de CSF-1R podría prevenir la pérdida de hueso después de uso de largo plazo de glucocorticosteroide, que es dado como un resultado de diferentes condiciones, entre ellas enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma y artritis reumatoide (Guzman-Clark 2007; Feldstein 2005).

La artritis reumatoide, artritis psirática y artritis inflamatoria son en sí mismas indicaciones potenciales para inhibidores de señalización de CSF-1R, que consisten en un componente de macrófago a grado variable de destrucción de hueso (Ritchlin 2003). La osteoartritis y artritis reumatoide son enfermedades autoinmunes

- inflamatorias, causadas por la acumulación de macrófagos en el tejido conectivo y la infiltración de macrófagos dentro del fluido sinovial, la cual es mediada por lo menos parcialmente por M-CSF. Campbell et al. (2000) demostraron que M-CSF es producido in vitro por células de tejido de articulación humano (condrocitos, fibroblastos sinoviales) y es hallado en fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide, sugiriendo que contribuye a la proliferación de tejidos sinovial e infiltración de macrófagos, que se asocia con la patogénesis de la enfermedad. Es probable que la inhibición de señalización de CSF-1R controle el número de macrófagos en la articulación y alivie el dolor de la destrucción asociada de hueso. Con objeto de minimizar los efectos adversos y entender más el impacto de la señalización de CSF-1R en estas indicaciones, un método es inhibir CSF-1R específicamente, sin tener como objetivo una miríada de otras quinasas, tales como quinasa Raf.
- Recientes reportes de literatura correlacionan el aumento de M-CSF circulante con pronóstico pobre y progreso ateroesclerótico en enfermedad crónica de arteria coronaria (Saitoh 2000; Ikonomidis 2005); M-CSF influye en el proceso ateroesclerótico ayudando a la formación de células de espuma (macrófagos con LDL oxidado ingerido) que expresan CSF-1R y representan la placa inicial (Murayama 1999).
- La expresión y señalización de M-CSF y CSF-1R es hallada en microglía activada. Las microglías, que son macrófagos residentes del sistema nervioso central, pueden ser activadas por diferentes daños, incluyendo infección y daño traumático. M-CSF es considerado un regulador clave de respuestas inflamatorias en el cerebro y aumento en los niveles de M-CSF en encefalitis por HIV-1, enfermedad de Alzheimer (AD) y tumores cerebrales. La microgliosis como una consecuencia de señalización autocrina por MCSF/ CSF-1R da como resultado la inducción de citoquinas inflamatorias y liberación de óxidos nítricos, como se demuestra por ejemplo usando un modelo experimental de daño neuronal (Hao 2002; Murphy 1998). Se ha hallado que las microglías que han aumentado la expresión de CSF-1R rodean las placas en AD y en el modelo de ratón transgénico V717F de proteína precursora de amiloide de AD (Murphy 2000). Por otro lado, ratones op/op con pocas microglías en el cerebro dieron como resultado deposición fibrilar de A β y pérdida neuronal comparados con el control normal, sugiriendo que las microglías tienen una función neuroprotectora en el desarrollo de AD carente en los ratones op/op (Kaku 2003).
- En un aspecto, la divulgación provee un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para el uso en el tratamiento de desórdenes relacionados con CSF-1R en una cantidad efectiva para reducir o prevenir el desorden. En una realización preferida, el desorden es crecimiento del tumor y/o metástasis en el sujeto.
- En otros aspectos, la divulgación suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento de desórdenes relacionados con CSF-1R en una cantidad efectiva para reducir o prevenir osteoclastogénesis, resorción de huesos y/o lesiones de huesos en el sujeto.
- En todavía otros aspectos, la divulgación suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento de desórdenes relacionados con CSF-1R en una cantidad efectiva para tratar el desorden en el sujeto, en combinación con por lo menos un agente adicional. En una realización más particular, el agente adicional es un bisfosfonato. En una realización, el desorden es crecimiento del tumor y/o metástasis, osteoclastogénesis, resorción de hueso y/o lesiones de hueso.
- En todavía otros aspectos, la divulgación suministra compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que son capaces de inhibir de manera selectiva o preferencial CSF-1R. En realizaciones preferidas, los inhibidores selectivos de CSF-1R son capaces de inhibir CSF-1R a más de aproximadamente 5 veces, o aproximadamente 10 veces, o aproximadamente 20 veces, o aproximadamente 30 veces, o aproximadamente 50 veces, o aproximadamente 100 veces, o aproximadamente 250 veces, o aproximadamente 500 veces, o aproximadamente 750 veces, o aproximadamente 1,000 veces, o aproximadamente 2,000 la actividad inhibitoria (respecto a valores IC₅₀, por ejemplo) en quinasa Raf.
- En otros aspectos, la divulgación suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en la inhibición de CSF-1R, que comprende el contacto de una célula con dicho compuesto.
- En un aspecto, el efecto inhibitorio de compuestos sobre Raf es determinado usando el siguiente ensayo biotinilado. La actividad de quinasa Raf es medida suministrando ATP, un sustrato MEK inactivo a la quinasa recombinante y probando la transferencia del fragmento de fosfato al residuo de MEK. El MEK de longitud total recombinante con una mutación de sitio de unión de ATP K97R que inactiva (haciendo inactiva la quinasa) es expresado en E. coli y etiquetado con biotina después de la purificación. El cADN de MEK es subclonado con una baliza (His)₆ terminal en N y expresado en E. coli y el sustrato MEK recombinante es purificado a partir de lisado de E. coli, mediante cromatografía de afinidad con níquel, seguida por intercambio de anión. La preparación de sustrato de MEK final es biotinilada (Pierce EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin) y concentrado a aproximadamente 11.25 μ M. Se obtiene Raf recombinante (incluyendo isoformas c-Raf y B-Raf mutante) mediante purificación de células sf9 de insecto infectadas con los correspondientes vectores de expresión recombinante de Raf humano. Las isoformas de Raf recombinante son purificadas a través de una interacción de anticuerpo Glu o mediante cromatografía de ion metálico.

Para cada ensayo, el compuesto es diluido en serie, por ejemplo, partiendo a 25 μM con diluciones de 3 veces, en DMSO y luego mezclado con varias isoformas de Raf (aproximadamente 0.50 nM cada una). Se añade el sustrato de biotina-MEK inactivo a la quinasa (50 nM) en amortiguador de reacción más ATP (1 μM). El amortiguador de reacción contiene Tris-HCl 30 mM, pH 7.5, MgCl₂ 10 mM, DTT 2 mM, EDTA 4mM, beta-glicerofosfato 25 mM, MnCl₂ 5 mM, y BSA/PBS 0.01%. A continuación se incuban las reacciones por aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente y se detienen por la adición de EDTA 0.5 M. La mezcla de reacción detenida es transferida a una placa recubierta con neutravidina e incubada por aproximadamente 1 hora. Se mide el producto fosforilado con el sistema DELFIA de fluorescencia resuelto en el tiempo, usando un anti-p-MEK de conejo (señalización de célula) como el anticuerpo primario y anti-conejo etiquetado con europio, como el anticuerpo secundario. La fluorescencia resuelta en el tiempo puede ser leída sobre un fluorómetro Wallac 1232 DELFIA. Se calcula la concentración del compuesto para inhibición del 50% (IC₅₀) mediante regresión no lineal usando el software para análisis de datos XL Fit.

En todavía otros aspectos, las realizaciones preferidas suministran un compuesto, tautómero, solvato, óxido, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en una cantidad efectiva para reducir o prevenir el crecimiento del tumor en el sujeto, en combinación con por lo menos un agente adicional para el tratamiento del cáncer. En una realización más particular, el agente adicional es un bisfosfonato.

Se contempla el uso de varios agentes adecuados contra el cáncer, como combinación terapéutica de acuerdo con lo definido aquí. En verdad, las realizaciones preferidas incluyen administración de varios agentes adicionales contra el cáncer, pero no limitados a, agentes que inducen apoptosis; polinucleótidos (por ejemplo ribozimas); polipéptidos (por ejemplo enzimas); fármacos; imitaciones biológicas; alcaloides; agentes que introducen grupo alquilo; antibióticos antitumorales; antimetabolitos; hormonas; compuestos de platino; anticuerpos monoclonales conjugados con fármacos contra el cáncer, toxinas y/o radionúclidos; modificadores de respuesta biológica (por ejemplo interferones [por ejemplo IFN- α , etc.] e interleuquinas [por ejemplo IL-2, etc.], etc.); agentes de inmunoterapia adoptiva; factores de crecimiento hematopoyético; agentes que inducen la diferenciación celular del tumor (por ejemplo ácido todo trans-retinoico, etc.); reactivos de terapia genética; reactivos de terapia antisentido y nucleótidos; vacunas para tumor; inhibidores de angiogénesis, y similares. Aquellos expertos en la técnica conocen varios otros ejemplos de compuestos quimioterapéuticos y terapias contra el cáncer, adecuados para coadministración con los compuestos divulgados de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

En realizaciones preferidas, agentes adicionales contra el cáncer que pueden usarse en combinación con compuestos como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 comprenden agentes que inducen o estimulan apoptosis. Los agentes que inducen apoptosis incluyen, pero no están limitados a, radiación (por ejemplo ω); inhibidores de quinasa (por ejemplo inhibidor de quinasa de Receptor de Factor de Crecimiento Epidérmico [EGFR], inhibidor de quinasa de Receptor de Factor de Crecimiento Endotelial [VEGFR], inhibidor de quinasa de Receptor de Factor de Crecimiento de Fibroblasto [FGFR], inhibidor de quinasa de receptor del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas [PDGFR] I, e inhibidores de quinasa Bcr-Abl tales como STI-571, Gleevec, y Glivec); moléculas antisentido; anticuerpos [por ejemplo Herceptin y Rituxan]; antiestrógenos [por ejemplo raloxifene y tamoxifen]; anti-andrógenos [por ejemplo flutamide, bicalutamide, finasteride, aminoglutetamide, cetoconazole, y corticoesteroides]; inhibidores de ciclooxigenasa 2 (COX-2) [por ejemplo Celecoxib, meloxicam, NS-398, y fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAIDs)]; y fármacos quimioterapéuticos de cáncer [por ejemplo irinotecan (Camptosar), CPT-11, fludarabine (Fludara), dacarbazine (DTIC), dexametasona, mitoxantrone, Miltarg, VP-16, cisplatino, 5-FU, Doxrubicin, Taxotere o taxol; moléculas de señalización celular; ceramidas y citoquinas; y estaurosporina, y similares.

Los compuestos de las realizaciones preferidas son útiles *in vitro* o *in vivo* en la inhibición de crecimiento de células de cáncer. Los compuestos pueden ser usados solos o en composiciones junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otros aspectos, la divulgación suministra una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, adecuado para la administración a un sujeto humano o animal, sea sólo o junto con otros agentes contra el cáncer.

En otros aspectos, la divulgación suministra métodos de manufactura de compuestos de la invención, como se describen aquí.

En otros aspectos, se suministra una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, los compuestos inhiben preferencialmente CSF-1R sobre quinasa Raf. Más particularmente, dicho compuesto inhibe quinasa Raf a más de aproximadamente 1 μM .

Otros aspectos comprenden además un agente adicional. Más particularmente, dicho agente adicional es un bisfosfonato.

5 Otros aspectos suministran compuestos como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, efectivos para inhibir la actividad CSF-1R en un sujeto humano o animal, cuando les son administrados. Más particularmente, dicho compuesto exhibe un valor IC_{50} respecto a la inhibición de CSF-1R, inferior a aproximadamente 1 μ M. Más particularmente, dicho compuesto exhibe un valor IC_{50} respecto a la inhibición de Raf mayor a aproximadamente 1 μ M.

La divulgación suministra el uso de un compuesto como se define aquí, para inhibir CSF-1R, en el que dicho compuesto inhibe de manera selectiva CSF-1R.

10 Los compuestos de las realizaciones son útiles *in vitro* o *in vivo* en la inhibición del crecimiento de células de cáncer. Los compuestos pueden ser usados solos o en composiciones junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, agentes de procesamiento y modificadores y mejoradores de entrega de fármacos, tales como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa de sodio, dextrosa, hidroxipropil- β -ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico y similares, así como combinaciones de dos o más de ellas. En "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Pub. Co., New Jersey (1991) se describen otros excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados.

Administración y composición farmacéutica

20 En general, los compuestos de la divulgación serán administrados en una cantidad terapéuticamente efectiva, por cualquiera de los modos aceptados de administración para agentes que sirven fines similares. La cantidad real del compuesto de las realizaciones preferidas, es decir el ingrediente activo, dependerá de numerosos factores, tales como la severidad de la enfermedad que va a ser tratada, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto usado, la ruta y forma de administración, y otros factores. El fármaco puede ser administrado más de una vez al día, preferiblemente una o dos veces al día. Todos estos factores están dentro de la destreza del facultativo que atiende.

30 Las cantidades efectivas de los compuestos de la divulgación incluyen generalmente cualquier cantidad suficiente para inhibir de manera detectable la actividad de CSF-1R por cualquiera de los ensayos descritos aquí, por otros ensayos de actividad de quinasa CSF-1R conocidos por aquellos que tienen destreza ordinaria en la técnica, o por detección de una inhibición o alivio de los síntomas de cáncer.

35 La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con los materiales vehículo, para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Sin embargo, se entenderá que el nivel específico de dosificación para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, rata de excreción, combinación de fármaco y la severidad de la enfermedad particular que soporta terapia. La cantidad terapéuticamente efectiva para una situación dada puede ser determinada fácilmente mediante experimentación de rutina y está dentro de la destreza y juicio del facultativo ordinario.

40 Para propósitos de la divulgación, una dosificación terapéuticamente efectiva puede ser en general una dosificación total diaria administrada a un huésped en dosificaciones simples o divididas, puede estar en cantidades, por ejemplo, de aproximadamente 0.001 a aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal diariamente y más preferido de aproximadamente 1.0 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal diariamente. Las composiciones de dosificación unitaria pueden contener tales cantidades de submúltiplos de ellas, para totalizar la dosificación diaria.

45 La elección de formulación depende de diferentes factores, tales como el modo de administración del fármaco y biodisponibilidad de la sustancia del fármaco. En general, los compuestos de la divulgación pueden ser administrados como composiciones farmacéuticas por una cualquiera de las siguientes rutas: administración oral, sistémica (por ejemplo transdérmica, intranasal o por supositorio), o parenteral (por ejemplo intramuscular, intravenosa o subcutánea). La forma preferida de administración es oral usando un régimen de dosificación diaria conveniente, que puede ser ajustado de acuerdo con el grado de afección. Las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición apropiada. Otra forma preferida para la administración de compuestos de realizaciones preferidas es la inhalación. Este es un método efectivo para entregar un agente terapéutico directamente al tracto respiratorio (véase patente de EEUU 5,607,915).

Los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, agentes de

procesamiento y modificadores y mejoradores de entrega de fármaco, tales como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, polisacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa de sodio, dextrosa, hidroxipropil- β -ciclodextrina, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico y similares, así como combinaciones de cualquiera dos o más de estos. Los excipientes líquidos y semisólidos pueden ser seleccionados de entre glicerol, propilenglicol, agua, etanol y diferentes aceites, incluyendo aquellos de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc. Los vehículos líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina, dextrosa acuosa y glicoles. En "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991) se describen otros excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables.

Como se usa aquí, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales no tóxicas ácidas o de metales alcalinotérreos de los compuestos como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4. Estas sales pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento final y purificación de los compuestos, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o mediante reacción separada de las funciones básica o ácida con un ácido o base orgánico o inorgánico adecuado, respectivamente. Las sales representativas incluyen, pero no están limitadas, a las siguientes: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanesulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato y undecanoato. También, los grupos básicos que contienen nitrógeno pueden ser transformados en cuaternarios, con agentes tales como haluros de alquilo, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dialquilo como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralkilo como bromuros de bencilo y fenetilo, y otros. De este modo se obtienen productos que son solubles o pueden dispersarse en agua o en aceite.

Ejemplos de ácidos que pueden ser empleados para formar sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables, incluyen tales ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y tales ácidos orgánicos como ácido oxálico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido succínico y ácido nítrico. Las sales de adición básica pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento final y purificación de los compuestos, como se definió en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o separadamente mediante reacción de fragmentos de ácido carboxílico con una base adecuada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable o con amoníaco, o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitadas a cationes a base de los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, aluminio y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina, incluyendo, pero sin limitarse a amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básica incluyen dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares.

Los compuestos de la divulgación pueden ser administrados, según se desee por vía oral, parenteral, sublingual, por formación de aerosol o atomización para inhalación, por vía rectal o tópica en formulaciones de dosificación unitaria que contienen vehículos, adyuvantes y soportes convencionales no tóxicos farmacéuticamente aceptables. La administración tópica puede involucrar también el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de ionoforesis. Como se usa aquí, el término parenteral incluye inyecciones cutáneas, técnicas intravenosa, intratecal, intramuscular, intraesternal, o de infusión.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo suspensiones acuosas u oleaginosas estériles inyectables, pueden ser formuladas de acuerdo con la técnica conocida, usando agentes de dispersión o humectación o agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un solvente o diluyente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-propanodiol. Entre los vehículos aceptables y solventes que pueden emplearse están agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente, como solvente o medio de suspensión se emplean de modo convencional aceites fijos estériles. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono o di-glicéridos sintéticos. Adicionalmente, ácidos grasos, tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Pueden prepararse supositorios para administración rectal del fármaco, mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, tal como manteca de cacao y polietilenglicoles, que son sólidos a temperaturas ordinarias pero líquidos a la temperatura rectal y por ello se fundirán en el recto y liberarán el fármaco.

Las formas sólidas de dosificación para administración oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y

gránulos. En tales formas de dosificación, puede mezclarse el compuesto activo con por lo menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender también, como es práctica normal, sustancias adicionales diferentes a los diluyentes inertes, por ejemplo agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender también agentes de amortiguación. Adicionalmente, pueden prepararse comprimidos y píldoras, con recubrimientos entéricos.

Las formas líquidas de dosificación para administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tal como agua. Tales composiciones pueden comprender también adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, ciclodextrinas, y agentes edulcorantes, saborizantes y aromatizantes.

Los compuestos de la divulgación pueden ser administrados también en la forma de liposomas. Como es conocido en la técnica, los liposomas se derivan generalmente de fosfolípidos u otras sustancias de lípidos. Los liposomas están formados por cristales líquidos hidratados de una o varias láminas, que están dispersos en un medio acuoso. Puede usarse cualquier lípido no tóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable, capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposoma pueden contener, adicionalmente a un compuesto de las realizaciones preferidas, estabilizantes, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar liposomas son conocidos en la técnica. Véase por ejemplo Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.W., p. 33 et seq. (1976).

Pueden usarse gases comprimidos para dispersar un compuesto de la divulgación en forma de aerosol. Los gases inertes adecuados para este propósito son nitrógeno, dióxido de carbono, etc. En *Remington's Pharmaceutical Sciences*, editado por E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18ª ed., 1990) se describen otros excipientes farmacéuticos adecuados y sus formulaciones.

Para entrega vía inhalación, el compuesto puede ser formulado como solución líquida, suspensiones, propelentes de aerosol, polvo seco, y cargado dentro de un dispensador adecuado para administración. Hay varios tipos de dispositivos de inhalación-inhaladores nebulizadores farmacéuticos, inhaladores de dosificación medida (MDI) e inhaladores de polvo seco (DPI). Los dispositivos nebulizadores producen una corriente de aire a alta velocidad que hace que los agentes terapéuticos (que están formulados en una forma líquida) se atomicen como una niebla que es llevada al interior del tracto respiratorio del paciente. Típicamente los MDI's son formulaciones empacadas con un aire comprimido. Por actuación, el dispositivo descarga una cantidad medida de agente terapéutico mediante el gas comprimido, proporcionando así un método confiable de administración de una cantidad definida de agente. DPI dispensa agentes terapéuticos en forma de un polvo que fluye libremente, que puede dispersarse en la corriente de aire que inhala el paciente, durante la respiración mediante el dispositivo. Con objeto de lograr un polvo que fluye libremente, el agente terapéutico es formulado con un excipiente tal como lactosa. Una cantidad medida del agente terapéutico es almacenada en una forma de cápsula y es dispensada con cada actuación.

Recientemente, se han desarrollado formulaciones farmacéuticas especialmente para fármacos que muestran poca biodisponibilidad, basados en el principio según el cual puede aumentarse la biodisponibilidad, aumentando el área superficial, es decir disminuyendo el tamaño de partícula. Por ejemplo, el documento de EEUU no. 4,107,288 describe una formulación farmacéutica que tiene partículas en el intervalo de tamaño de aproximadamente 10 a aproximadamente 1,000 nm, en el cual el material activo está soportado sobre una matriz entrecruzada de macromoléculas. El documento de EEUU No. 5,145,684 describe la producción de una formulación farmacéutica en la cual la sustancia fármaco es pulverizada hasta nanopartículas (promedio de tamaño de partícula de aproximadamente 400 nm) en presencia de un modificador de superficie y entonces se dispersa en un medio líquido para dar una formulación farmacéutica que exhibe biodisponibilidad notablemente alta.

Terapias de combinación

Se divulga que los compuestos de las realizaciones preferidas pueden ser administrados como el único agente farmacéutico activo, y que ellos pueden ser usados también en combinación con uno o más otros agentes usados en el tratamiento de cáncer. Los compuestos de las realizaciones preferidas son útiles también en combinación con agentes terapéuticos conocidos y agentes contra el cáncer, y se divulgan combinaciones de los compuestos divulgados actualmente con otros agentes contra el cáncer o quimioterapéuticos. En *Cancer Principles and Practice of Oncology*, V. T. Devita y S. Hellman (editores), 6a edición (Feb. 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers, pueden hallarse ejemplos de tales agentes. Una persona de destreza ordinaria en la técnica, sería capaz de distinguir cuáles combinaciones de agentes serían útiles, con base en las características particulares de los fármacos y el cáncer involucrados. Tales agentes contra el cáncer incluyen, pero no están limitados a, los siguientes: moduladores de receptor de estrógeno, moduladores de receptor de andrógeno, moduladores de receptor de retinoide, agentes citotóxicos/citoestáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de transferasa de

prenil-proteína, inhibidores de reductasa HMG-CoA y otros inhibidores de angiogénesis, inhibidores de proliferación celular y señalización de supervivencia, agentes que inducen apoptosis y agentes que interfieren con puntos de evaluación del ciclo celular. Los compuestos de las realizaciones preferidas son útiles también cuando son coadministrados con terapia de radiación.

- 5 Por ello, en una realización, los compuestos son usados también en combinación con agentes conocidos contra el cáncer incluyendo, por ejemplo, moduladores de receptor de estrógeno, moduladores de receptor de andrógeno, moduladores de receptor de retinoide, agentes citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de transferasa de prenil-proteína, inhibidores de reductasa HMG-CoA, inhibidores de proteasa de HIV, inhibidores de transcriptasa inversa y otros inhibidores de angiogénesis.
- 10 Los moduladores de receptor de estrógeno son compuestos que pueden interferir con o inhibir la unión de estrógeno al receptor, sin importar el mecanismo. Los ejemplos de moduladores de receptor de estrógeno incluyen, pero no están limitados a, tamoxifen, raloxifeno, idoxifeno, LY353381, LY117081, toremifeno, fulvestrant, 4-[7-(2,2-dimetil-1-oxopropoxi-4-metil-2-[4-[2-(1-piperidinil)etoxi]fenil]-2H-1-benzopiran-3-il)-fenil]-2,2-dimetil-propanoato, 4,4'-dihidroxibenzofenona-2,4-dinitrofenil-hidrazona, y SH646.
- 15 Los receptores de modulador de andrógeno son compuestos que pueden interferir con o inhibir la unión de andrógenos a un receptor de andrógeno. Los ejemplos representativos de moduladores de receptor de andrógeno incluyen finasteride y otros inhibidores de 5 α -reductasa, nilutamide, flutamide, bicalutamide, liarozole, y abiraterone acetato. Los moduladores de receptor de retinoide son compuestos que interfieren o inhiben la unión de retinoides a un receptor de retinoide. Los ejemplos de moduladores de receptor de retinoide incluyen bexarotene, tretinoin, ácido 20 13-cis-retinoico, ácido 9-cis-retinoico, α -difluorometilornitine, LX23-7553, trans-N-(4'-hidroxifenil) retinamida, y N4-carboxifenil retinamida.

Los agentes citotóxicos y/o citoestáticos son compuestos que pueden causar la muerte celular o inhibir la proliferación celular, primariamente interfiriendo directamente en el funcionamiento de la célula o inhibiendo o interfiriendo la mitosis celular, incluyendo agentes de introducción de grupo alquilo, factores de necrosis de tumor, 25 intercaladores, compuestos que pueden activarse por hipoxia, agentes inhibidores de microtúbulos/estabilizantes de microtúbulos, inhibidores de quinesinas de mitosis, inhibidores de quinasas involucradas en el progreso de mitosis, antimetabolitos; modificadores de respuesta biológica; agentes terapéuticos hormonal/anti-hormonal, factores de crecimiento hematopoyético, agentes terapéuticos focalizados en anticuerpo monoclonal, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de proteasoma e inhibidores de ligasa de ubiquitina. los ejemplos de agentes cito 30 tóxicos incluyen, pero no están limitados a, sertenef, cachectina, ifosfamida, tasonermina, lonidamine, carboplatina, altretamine, prednimustine, dibromodulcitol, ranimustine, fotemustine, nedaplatina, oxaliplatina, temozolomide, heptaplatina, estramustine, improsulfan tosilat, trofosfamida, nimustine, cloruro de dibrospidio, pumitepa, lobaplatina, satraplatina, profiromicina, cisplatina, irofulven, dexifosfamida, cis-aminedicloro(2-metil-piridine)platino, bencilguanina, glufosfamida, GPX100, tetracloruro de (trans, trans, trans)-bis-mu-(hexane-1,6-diamine)-mu- 35 [diamina-platino(II)]bis[diamina(cloro)platino (II)], diarizidinilsperrina, trióxido de arsénico, 1-(11-dodecilamino-10-hidroxiundecil)-3,7-dimetilxantina, zorubicina, idarubicina, daunorubicina, bisantreno, mitoxantrone, pirarubicina, pinafide, valrubicina, amrubicina, antineoplaston, 3'-desamino-3'-morfolino-13-deoxo-10-hidroxicarminomicina, anamicina, galarubicina, elinafide, MEN10755, y 4-desmetoxi-3-desamino-3-aziridinil-4-metilsulfonil-daunorubicina (véase el documento WO 00/50032). Un ejemplo representativo de compuestos que pueden activarse por hipoxia es tirapazamina. Los inhibidores de proteasoma incluyen, pero no están limitados a, lactacistina y bortezomib. Los 40 ejemplos de agentes inhibidores de microtúbulos/estabilizantes de microtúbulos incluyen paclitaxel, vindesine sulfato, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-8'-norvincalcucoblastina, docetaxol, rizoxina, dolastatina, mivobulin isotionato, auristatina, cemadotina, RPR109881, BMS184476, vinflunina, criptoficina, 2,3,4,5,6-pentafluoro-N-(3-fluoro4-metoxifenil) benceno sulfonamida, anhidrovinblastina, N,N-dimetil-L-valil-L-valil-N-metil-L-valil-L-proline-t 45 butilamida, TDX258, las epotilonas (véase por ejemplo documentos de EE UU números 6,284,781 y 6,288,237) y BMS188797. Ejemplos representativos de inhibidores de topoisomerasa incluyen topotecan, hicaptamine, irinotecan, rubitecan, 6-etoxipropionil-3',4'-O-exo-benciliden-chartreusina, 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazolo[3,4,5-k]acridin-2-(6H) propanamina, 1-amino-9-etil-5-fluoro-2,3-dihidro-9-hidroxi-4-metil-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':b,7]-indolizino[1,2b]quinoline-10,13(9H,15H)diona, lurtotecan, 7-[2-(N-isopropilamino)etil]- 50 (20S)camptotecina, BNP1350, BNPI1100, BN80915, BN80942, etoposide fosfato, teniposide, sobuzoxane, 2'-dimetilamino-2'-deoxi-etoposide, GL331, N-[2-(dimetilamino)etil]-9-hidroxi-5,6-dimetil-6H-pirido[4,3-b]carbazole-1-carboxamida, asulacrine, (5a, 5aB, 8aa, 9b)-9-[2-[N-[2-(dimetilamino)etil]-N-metilamino]etil]-5-[4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil]-5,5a,6,8,8a,9-hexahidrofuro(3',4':6,7)nafto(2,3-d)-1,3-dioxol-6-ona, 2,3-(metilen-dioxi)-5-metil-7-hidroxi-8-metoxibenzoc[f]-fenantridinio, 6,9-bis [(2-aminoetil)amino]benzo[g]isoguinoline-5,10-diona, 5-(3-aminopropilamino)-7,10-dihidroxi-2-(2-hidroxi-etilaminometil)-6H-pirazolo[4,5,1'-de]acridin-6-ona, N-[1-[2(dietilamino)-etilamino]-7-metoxi-9-oxo-9H-tioxanten-4-ilmetil]formamida, N-(2-(dimetilamino)etil)acridin-4-carboxamida, 6-[[2-(dimetilamino)etil]amino]-3-hidroxi-7H-indeno[2,1-c]quinolin-7-ona, y dimesna. Ejemplos de inhibidores de 55 quinesinas de mitosis, tales como la quinesina KSP de mitosis humana, son descritos en las publicaciones de los documentos WO 01/30768 y WO 01/98278, WO 03/050,064 (19 de junio de 2003), WO 03/050,122 (19 de junio de

2003), WO 03/049,527 (19 de junio de 2003), WO 03/049,679 (19 de junio de 2003), WO 03/049,678 (19 de junio de 2003) y WO 03/39460 (15 de mayo de 2003) y los documentos pendientes de solicitud números US03/06403 (registrado el 4 de marzo de 2003), US03/15861 (registrado el 19 de mayo de 2003), US03/15810 (registrado el 19 de mayo de 2003), US03/18482 (registrado el 12 de junio de 2003) y US03/18694 (registrado el 12 de junio de 2003). Los inhibidores de quinesinas de mitosis incluyen, pero no están limitados a inhibidores de KSP, inhibidores de MKLP1, inhibidores de CENP-E, inhibidores de MCAK, inhibidores de Kif14, inhibidores de Mphosph1 e inhibidores de Rab6-KIFL.

Los inhibidores de quinasas involucrados en el progreso de mitosis incluyen, pero no están limitados a inhibidores de quinasas aurora, inhibidores de quinasas similares a Polo (PLK) (por ejemplo inhibidores de PLK-1), inhibidores de bub-1 e inhibidores de bub-1R. Los agentes anti proliferativos incluyen oligonucleótidos antisentido de ARN y ADN tales como G3139, ODN698, RVASKRAS, GEM231, y INX3001, y antimetabolitos tales como encitabine, carmofur, tegafur, pentostatin, doxifluridine, trimetrexato, fludarabine, capecitabine, galocitabine, citarabine ocfosfato, hidrato de fosteabine de sodio, raltitrexed, paltitrexid, emitofur, tiazoferin, decitabine, nolatrexed, pemetrexed, nelzarabine, 2'-deoxi-2'-metilideneцитidine, 2'-fluorometilen-2'-desoxicitidine, N-[5-(2,3-dihidro-benzofuril)sulfonil]-N'-(3,4-diclorofenil)urea, N6-[4-desoxi-4-[N2-[2(E),4(E)-tetradecadienoil]glicilamino]-L-glicero-B-L-mano-heptopiranosil]adenina, aplidine, ecteinascidina, troxacitabine, ácido 4-[2-amino-4-oxo-4,6,7,8-tetrahidro-3H-pirimidino[5,4-b][1,4]tiazin-6-il-(S)-etil]-2,5-tienoil-L-glutámico, aminopterina, 5-fluorouracilo, alanosina, éster del ácido 11-acetil-8-(carbamoiloximetil)-4-formil-6-metoxi-14-oxa-1,1-diazatetraciclo(7.4.1.0.0)-tetradeca-2,4,6-trien-9-il acético, swainsonine, lometrexol, dexrazoxane, metioninase, 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-B-D-arabino furanosil citosina y 3-aminopiridin-2-carboxaldehído tiosemicarbazona. Ejemplos de agentes terapéuticos focalizados en anticuerpo monoclonal incluyen aquellos agentes terapéuticos que tienen agentes citotóxicos o radioisótopos unidos a un anticuerpo monoclonal específico de células de cáncer o célula objetivo. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, Bexxar. Los inhibidores de reductasa de HMG-CoA son inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. Los compuestos que tienen actividad inhibitoria para reductasa HMG-CoA pueden ser fácilmente identificados usando ensayos bien conocidos en la técnica, tales como aquellos descritos o citados en los documentos de EEUU No. 4,231,938 y WO 84/02131. Los ejemplos de inhibidores de reductasa de HMG-CoA que pueden usarse incluyen, pero no están limitados a, lovastatina (MEVACOR®; véanse documentos de EEUU nos. 4,231,938, 4,294,926 y 4,319,039), simvastatina (ZOCOR®; véanse documentos de EEUU nos. 4,444,784, 4,820,850 y 4,916,239), pravastatina (PRAVACHOL®; véanse documentos de EEUU Nos. 4,346,227, 4,537,859, 4,410,629, 5,030,447 y 5,180,589), fluvastatina (LESCOL®; véanse documentos de EEUU Nos. 5,354,772, 4,911,165, 4,929,437, 5,189,164, 5,118,853, 5,290,946 y 5,356,896) y atorvastatina (LIPITOR®; véanse documentos de EEUU Nos. 5,273,995, 4,681,893, 5,489,691 y 5,342,952). Se divulga que las fórmulas estructurales de estos e inhibidores adicionales de reductasa de HMG-CoA que pueden ser usados en los métodos actuales se describen en la página 87 de M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", Chemistry & Industry, pp. 85-89 (5 de febrero de 1996) y documentos de EEUU nos. 4,782,084 y 4,885,314. En una realización, el inhibidor de reductasa de HMG-CoA es seleccionado de lovastatina o simvastatina.

Los inhibidores de transferasa de prenil-proteína son compuestos que inhiben una cualquiera o cualquier combinación de las enzimas transferasa de prenilproteína, incluyendo farnesil-proteína transferasa (FPTasa), geranilgeranil-proteína transferasa tipo I (GGPTasa-I), y geranilgeranil-proteína transferasa tipo-II (GGPTasa-II, también llamada Rab GGPTasa). los ejemplos de compuestos que inhiben transferasa de prenil-proteína incluyen (6)-6-[amine(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]-4-(3-clorofenil)-1-metil-2(1H)-quinolinona, (-)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]-4-(3-clorofenil)-1-metil-2(1H)-quinolinona, (+)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]-4-(3-clorofenil)-1-metil-2(1H)-quinolinona, 5(S)-n-butyl-1-(2,3-dimetilfenil)-4-[1-(4-cianol)-5-imidazolilmetil-2-piperazinone, (S)-1-(3-clorofenil)-4-[1-(4-cianobencil)-5-imidazolilmetil]-5-[2-(etanesulfonil)metil]-2-piperazinona, 5(S)-n-butyl-1-(2-metilfenil)-4-[1-(4-cianobencil)-5-imidazolilmetil]-2-piperazinona, 1-(3-clorofenil)-4-[1-(4-cianobencil)-2-metil-5-imidazolilmetil]-2-piperazinona, 1-(2,2-difeniletel)-3-[N-(1-(4-cianobencil)-1H-imidazol-5-iletel)carbamoil]piperidina, 4-{-[4-hidroxiometil-4-(4-cloropiridin-2-ilmetil)-piperidin-1-ilmetil]-2-metilimidazol-1-ilmetil}benzonitrilo, 4-{-5-[4-hidroxiometil-4-(3-clorobencil)-1-ilmetil]-2-metilimidazol-1-ilmetil}-benzonitrilo, 4-{3-[4-(2-oxo-2H-piridin-1-il)bencil]-3H-imidazol-4-ilmetil}benzonitrilo, 4-{3-[4-(5-cloro-2-oxo-2H-[1,2']bipiridin-5'-ilmetil)-3H-imidazol-4-ilmetil}benzonitrilo, 4-{3-[4-(2-oxo-1-fenil-1,2-dihidropiridin-4-ilmetil)-3H-imidazol-4-ilmetil}benzonitrilo, 18,19-dihidro-19-oxo-5H,17H-6,10:12,16-dimeteno-1H-imidazo[4,3-c][1,11,4]dioxazaciclo-nonadecine-9-carbonitrilo, (6)-19,20-dihidro-19-oxo-5H-18,21-etano-12,14-eteno-6,10-meteno-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k]-[1,6,9,12]oxatriaza-ciclooctadecine-9-carbonitrilo, 19,20-dihidro-19-oxo-5H,17H-18,21-etano-6,10:12,16-dimeteno-22H-imidazo[3,4-h][1,8,11,14]oxatriazaciclo-eicosine-9-carbonitrilo, y (.+.-)-19,20-dihidro-3-metil-19-oxo-5H-18,21-etano-12,14-eteno-6,10-meteno-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k][1,6,9,12]oxa-triazaciclooctadecine-9-carbonitrilo. otros ejemplos de inhibidores de transferasa de prenil-proteína pueden ser hallados en las siguientes publicaciones y documentos: WO 96/30343, WO 97/18813, WO 97/21701, WO 97/23478, WO 97/38665, WO 98/28980, WO 98/29119, WO 95/32987, documento de EEUU No. 5,420,245, documento de EEUU No. 5,523,430, documento de EEUU No. 5,532,359, documento de EEUU No. 5,510,510, documento de EEUU No. 5,589,485, documento de EEUU No. 5,602,098, publicación de documento europeo 0 618 221, publicación de documento europeo 0 675 112,

publicación de documento europeo 0 604 181, publicación de documento europeo 0 696 593, WO 94/19357, WO 95/08542, WO 95/11917, WO 95/12612, WO 95/12572, WO 95/10514, documento de EEUU No. 5,661,152, WO 95/10515, WO 95/10516, WO 95/24612, WO 95/34535, WO 95/25086, WO 96/05529, WO 96/06138, WO 96/06193, WO 96/16443, WO 96/21701, WO 96/21456, WO 96/22278, WO 96/24611, WO 96/24612, WO 96/05168, WO 96/05169, WO 96/00736, documento de EEUU No. 5,571,792, WO 96/17861, WO 96/33159, WO 96/34850, WO 96/34851, WO 96/30017, WO 96/30018, WO 96/30362, WO 96/30363, WO 96/31111, WO 96/31477, WO 96/31478, WO 96/31501, WO 97/00252, WO 97/03047, WO 97/03050, WO 97/04785, WO 97/02920, WO 97/17070, WO 97/23478, WO 97/26246, WO 97/30053, WO 97/44350, WO 98/02436, y documento de EEUU No. 5,532,359. Para un ejemplo del papel de un inhibidor de transferasa de prenil-proteína sobre la angiogénesis véase *European J. of Cancer* 35(9):1394-1401 (1999).

Inhibidores de angiogénesis se refieren a compuestos que pueden inhibir la formación de nuevos vasos sanguíneos, independientemente del mecanismo. Ejemplos de inhibidores de angiogénesis incluyen, pero no están limitados a inhibidores de quinasa de tirosina, tales como inhibidores de receptores Flt 1 (VEGFR1) y Flk-1/KDR (VEGFR2) de la quinasa de tirosina, inhibidores de factores de crecimiento derivados de epidermis, derivados de fibroblasto, o derivados de plaquetas, inhibidores de MMP (metaloproteasa de matriz), bloqueadores de integrina, i inhibidores de interferon. alpha., interleuquina-12, pentosano polisulfato, ciclooxigenasa, incluyendo antiinflamatorios no esteroides (NSAIDs) como aspirina e ibuprofeno así como inhibidores selectivos de ciclooxigenasa-2 como celecoxib y rofecoxib (PNAS 89:7384 (1992); JNCI 69:475 (1982); Arch. Ophthalmol. 108:573 (1990); Anat. Rec., (238):68 (1994); FEBS Letters 372:83 (1995); Clin. Orthop. 313:76 (1995); J. Mol. Endocrinol. 16:107 (1996); Jpn. J. Pharmacol. 75:105 (1997); Cancer Res. 57:1625 (1997); Cell 93:705 (1998); Intl. J. Mol. Med. 2:715 (1998); J. Biol. Chem. 274:9116 (1999)), antiinflamatorios esteroides (tales como corticosteroides, mineralocorticoides, dexametasona, prednisona, prednisolona, metilpred, betametasona), carboxiamidotriazol, combretastatin A4, squalamine, 6-O-cloroacetil-carbonil)-fumagilol, talidomida, angiostatina, troponina-1, antagonistas de angiotensina II (véase Fernandez et al., J. Lab. Clin. Med. 105:141-145 (1985)), y anticuerpos para VEGF (véase Nature Biotechnology, 17:963-968 (octubre de 1999); Kim et al., Nature, 362:841-844 (1993); WO 00/44777; y WO 00/61186). Otros agentes terapéuticos que modulan o inhiben angiogénesis y pueden ser usados también en combinación con los compuestos de las realizaciones preferidas, incluyen agentes que modulan o inhiben los sistemas de coagulación y fibrinólisis (véase revisión en Clin. Chem. La. Med. 38:679-692 (2000)). Ejemplos de tales agentes que modulan o inhiben las rutas de coagulación y fibrinólisis incluyen, pero no están limitados a, heparina (véase Thromb. Haemost. 80:10-23 (1998)), inhibidores de heparinas de bajo peso molecular y carboxipeptidasa U (también conocidos como inhibidores de inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activa [TAFIa]) (véase Thrombosis Res. 101:329-354 (2001)). Los inhibidores de TAFIa han sido descritos en el documento WO 03/013,526 y U.S. Ser. No. 60/349,925 (registrado el 18 de enero de 2002). La divulgación también abarca combinaciones de los compuestos de las realizaciones preferidas con NSAIDs que son inhibidores selectivos de COX-2 (definidos generalmente como aquellos que poseen una especificidad para inhibir COX-2 sobre COX-1 de por lo menos aproximadamente 100 veces, según se mide por la relación de IC₅₀ para COX-2 sobre IC₅₀ para COX-1 evaluada por ensayos celulares o microsomales). Tales compuestos incluyen, pero no están limitados a aquellos divulgados en el documento de EEUU No. 5,474,995, emitido el 12 de diciembre de 1995, documento de EEUU No. 5,861,419, emitido el 19 de enero de 1999, documento de EEUU No. 6,001,843, emitido el 14 de diciembre de 1999, documento de EEUU No. 6,020,343, emitido el 1 de febrero de 2000, documento de EEUU No. 5,409,944, emitido el 25 de abril de 1995, documento de EEUU No. 5,436,265, emitido el 25 de julio de 1995, documento de EEUU No. 5,536,752, emitido el 16 de julio de 1996, documento de EEUU No. 5,550,142, emitido el 27 de agosto de 1996, documento de EEUU No. 5,604,260, emitido el 18 de febrero de 1997, documento de EEUU No. 5,698,584, emitido el 16 de diciembre de 1997, documento de EEUU No. 5,710,140, emitido el 20 de enero de 1998, WO 94/15932, publicado el 21 de julio de 1994, documento de EEUU No. 5,344,991, emitido el 6 de junio de 1994, documento de EEUU No. 5,134,142, emitido el 28 de julio de 1992, documento de EEUU No. 5,380,738, emitido el 10 de enero de 1995, documento de EEUU No. 5,393,790, emitido el 20 de febrero de 1995, documento de EEUU No. 5,466,823, emitido el 14 de noviembre de 1995, documento de EEUU No. 5,633,272, emitido el 27 de mayo de 1997, y documento de EEUU No. 5,932,598, emitido el 3 de agosto de 1999. Inhibidores de COX-2 representativos que son útiles incluyen 3-fenil-4-(4-(metilsulfonyl) fenil)-2-(5H)-furanona; y 5-cloro-3-(4-metilsulfonyl)fenil-2-(2-metil-5-piridinil)piridina. Los compuestos que son descritos como inhibidores específicos de COX-2 y son por ello útiles en las realizaciones preferidas, y síntesis de los mismos, pueden ser hallados en las siguientes patentes, solicitudes pendientes y publicaciones: WO 94/15932, publicado el 21 de julio de 1994, documento de EEUU No. 5,344,991, emitido el 6 de junio de 1994, documento de EEUU No. 5,134,142, emitido el 28 de julio de 1992, documento de EEUU No. 5,380,738, emitido el 10 de enero de 1995, documento de EEUU No. 5,393,790, emitido el 20 de febrero de 1995, documento de EEUU No. 5,466,823, emitido el 14 de noviembre de 1995, documento de EEUU No. 5,633,272, emitido el 27 de mayo de 1997, documento de EEUU No. 5,932,598, emitido el 3 de agosto de 1999, documento de EEUU No. 5,474,995, emitido el 12 de diciembre de 1995, documento de EEUU No. 5,861,419, emitido el 19 de enero de 1999, documento de EEUU No. 6,001,843, emitido el 14 de diciembre de 1999, documento de EEUU No. 6,020,343, emitido el 1 de febrero de 2000, documento de EEUU No. 5,409,944, emitido el 25 de abril de 1995, documento de EEUU No. 5,436,265, emitido el 25 de julio de

- 1995, documento de EEUU No. 5,536,752, emitido el 16 de julio de 1996, documento de EEUU No. 5,550,142, emitido el 27 de agosto de 1996, documento de EEUU No. 5,604,260, emitido el 18 de febrero de 1997, documento de EEUU No. 5,698,584, emitido el 16 de diciembre de 1997, y documento de EEUU No. 5,710,140, emitido el 20 de enero de 1998. Otros ejemplos de inhibidores de angiogénesis incluyen, pero no están limitados a, endostatina, ucraina, ranpirnasa, IM862, 5-metoxi-4-[2-metil-3-(3-metil-2-butenil)oxirani]l-1-oxaspiro[2,5]oct-6-il(cloroacetil)carbamato, acetildinanalina, 5-amino-1-[[3,5-dicloro-4-(4-clorobenzoil)fenil]metil]-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida, CM101, escualamine, combretastatina, RPI4610, NX31838, manopentosa fosfato sulfatada, 7,7-(carbonil-bis[imino-N-metil-4,2-pirrolocarbonilimino[N-metil-4,2-pirrole]-carbonilimino]-bis-(1,3-naftaleno disulfonato), y 3-[(2,4-dimetilpirrol-5-il)metil]-2-indolinona (SU5416).
- 10 Los agentes que interfieren con los puntos de evaluación del ciclo celular, son compuestos que pueden inhibir quinasas de proteína, que transducen señales de los puntos de evaluación del ciclo celular, dando sensibilidad de ese modo a las células de cáncer frente a los agentes dañinos de ADN. Tales agentes incluyen inhibidores de ATR, ATM, las quinasas Chk1 y Chk2 e inhibidores de quinasa cdk y cdc y son ejemplificados de manera específica por 7-hidroxiestaurosporina, flavopiridol, CYC202 (Cyclacel) y BMS-387032.
- 15 Los inhibidores de ruta de proliferación celular y señalización de supervivencia pueden ser agentes farmacéuticos que inhiben los receptores de la superficie celular y cascadas de transducción de señal corriente abajo de aquellos receptores de superficie. Tales agentes incluyen inhibidores de EGFR (por ejemplo gefitinib y erlotinib), inhibidores de ERB-2 (por ejemplo trastuzumab), inhibidores de IGFR, inhibidores de receptores de citoquina, inhibidores de MET, inhibidores de PI3K (por ejemplo LY294002), quinasas de serina/treonina (incluyendo pero sin limitarse a
- 20 inhibidores de Akt, tales como los descritos en los documentos WO 02/083064, WO 02/083139, WO 02/083140 y WO 02/083138), inhibidores de quinasa Raf (por ejemplo BAY-43-9006), inhibidores de MEK (por ejemplo CI-1040 y PD-098059) e inhibidores de mTOR (por ejemplo Wyeth CCI-779). Tales agentes incluyen compuestos inhibidores de molécula pequeña y antagonistas de anticuerpo.
- 25 Los agentes que inducen apoptosis incluyen activadores de miembros de la familia de receptor de TNF (incluyendo los receptores TRAIL).
- La divulgación suministra agentes representativos útiles en combinación con los compuestos de las realizaciones preferidas, para el tratamiento de cáncer que incluyen, por ejemplo irinotecan, topotecan, gemcitabine, 5-fluorouracil, leucovorin, carboplatin, cisplatin, taxanos, tezacitabine, ciclofosfamida, alcaloides vinca, imatinib (Gleevec), antraciclinas, rituximab, trastuzumab, así como otros agentes quimioterapéuticos de cáncer.
- 30 Los compuestos anteriores que van a ser empleados en combinación con los compuestos de las realizaciones preferidas, pueden ser usados en cantidades terapéuticas, como se indica en el Physicians' Desk Reference (PDR) 47ª edición (1993), o tales cantidades terapéuticamente útiles como sería sabido por alguien de ordinaria destreza en la técnica.
- 35 Los compuestos de las realizaciones preferidas y los otros agentes contra el cáncer, pueden ser administrados en las dosificaciones clínicas máximas recomendadas o en dosificaciones menores. Los niveles de dosificación de los compuestos activos en las composiciones de las realizaciones preferidas, pueden variarse de modo que se obtenga una respuesta terapéutica deseada, dependiendo de la ruta de administración, severidad de la enfermedad y la respuesta del paciente. La combinación puede ser administrada como composiciones separadas o como formas de dosificación individual que contienen ambos agentes. Cuando se administran como una combinación, los agentes
- 40 terapéuticos pueden ser formulados como composiciones separadas, que son dadas al mismo tiempo o en diferentes momentos, o los agentes terapéuticos pueden ser dados como una composición individual.
- Métodos generales de síntesis
- Los compuestos de las realizaciones preferidas pueden ser preparados a partir de materiales de partida fácilmente disponibles, usando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se notará que donde se dan condiciones
- 45 de proceso típicas o preferidas (es decir temperaturas o tiempos de reacción, relaciones molares de reactivos, solventes, presiones, etc.), pueden usarse también otras condiciones de proceso, a menos que se establezca de otro modo. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar con los reactivos o solventes particulares usados, pero tales condiciones pueden ser determinadas por alguien experto en la técnica, mediante procedimientos rutinarios de optimización.
- 50 Adicionalmente, como será evidente para aquellos expertos en la técnica, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para prevenir que ciertos grupos funcionales soporten reacciones indeseadas. Los grupos protectores adecuados para diferentes grupos funcionales así como condiciones adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en T. W. Greene y G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Síntesis*, tercera edición, Wiley, Nueva York, 1999, y las referencias citadas
- 55 aquí, se describen numerosos grupos protectores.

Además, los compuestos de realizaciones preferidas contienen uno o más centros quirales. De acuerdo con ello, si se desea, tales compuestos pueden ser preparados o aislados como estereoisómeros puros, es decir como enantiómeros o estereoisómeros individuales, o como mezclas enriquecidas en estereoisómeros. A menos que se indique de otro modo, todos tales estereoisómeros (y mezclas enriquecidas) están incluidos dentro del alcance de las realizaciones. Los estereoisómeros puros (o mezclas enriquecidas) pueden ser preparados usando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos estereoselectivos bien conocidos en la técnica. De modo alternativo, las mezclas racémicas de tales compuestos pueden ser separadas usando, por ejemplo, columnas quirales de cromatografía, agentes de resolución quiral y similares.

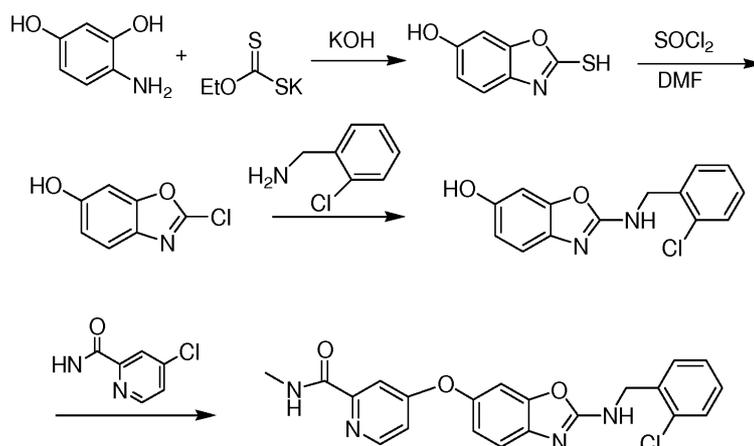
Los materiales de partida para las siguientes reacciones son compuestos conocidos en general, o pueden ser preparados mediante procedimientos conocidos o modificaciones obvias de ellos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida están disponibles a partir de proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EEUU), Bachem (Torrance, California, EEUU), Emka-Chemce o Sigma (St. Louis, Missouri, EEUU). Otros pueden ser preparados mediante procedimientos, o modificaciones obvias de ellos, descritos en textos de referencia estándar tales como Reagents for Organic Síntesis de Fieser y Fieser, volúmenes 1-15 (John Wiley y Sons, 1991), Chemistry of Carbon compuestos de Rodd, volúmenes 1-5 y suplementos (Elsevier Science Publishers, 1989), Organic Reactions, volúmenes 1-40 (John Wiley y Sons, 1991), Advanced Organic Chemistry de March, (John Wiley y Sons, 4ª edición), y Comprehensive Organic Transformations de Larock (VCH Publishers Inc., 1989).

Los diferentes materiales de partida, productos intermedios y compuestos de las realizaciones preferidas, pueden ser aislados y purificados donde sea apropiado, usando técnicas convencionales, tales como precipitación, filtración, cristalización, evaporación, destilación y cromatografía. La caracterización de estos compuestos puede ser ejecutada usando métodos convencionales tales como punto de fusión, espectro de masas, resonancia magnética nuclear y otros diferentes análisis espectroscópicos.

Los compuestos de las realizaciones pueden ser preparados en general usando diferentes métodos familiares para alguien experto en la técnica, tales como, por ejemplo, los métodos divulgados en los documentos US20040087626 A1 y US20040122237 A1. Los compuestos de las realizaciones pueden ser hechos generalmente de acuerdo con los siguientes Esquemas 1-8 de reacción de referencia, que se describen en detalle en los Ejemplos y Ejemplos de referencia, abajo.

Los esquemas 1-8 de referencia ilustran métodos generales para la preparación de productos intermedios y compuestos de los Ejemplos y Ejemplos de referencia. Estos compuestos son preparados desde materiales de partida, sea conocidos en la técnica o disponibles comercialmente. Los compuestos específicos están sólo para propósitos ilustrativos.

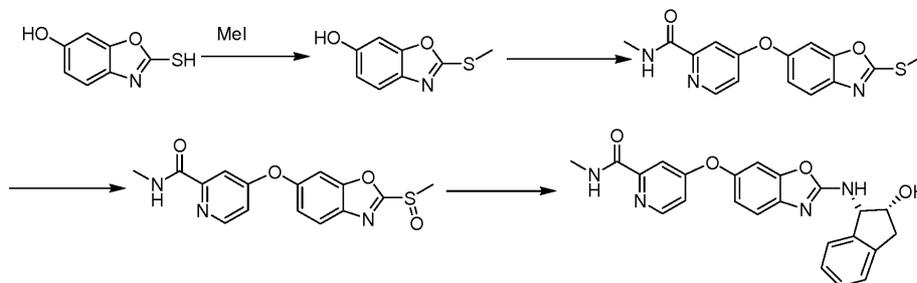
Esquema 1 de referencia



En el esquema 1 de referencia, 2-hidroxianilina o un derivado de ella reacciona con ácido etilxántico para dar un tiolbenzoxazol. El tiol-benzoxazol es convertido a un cloro-benzoxazol con reacción con cloruro de tionilo. De modo alternativo, el tiol benzoxazol puede ser convertido en benzoxazol halogenado con un arreglo de agentes halogenantes, tales, pero no limitado a tricloruro de fósforo, tribromuro de fósforo, fosgeno o cloruro de oxalilo. El cloro-benzoxazol reacciona entonces con una bencilamina tal como 2-clorobencilamina para dar un bencilaminobenzoxazol. El bencilaminobenzoxazol es acoplado con cloro-piridina en presencia de una base tal como carbonato

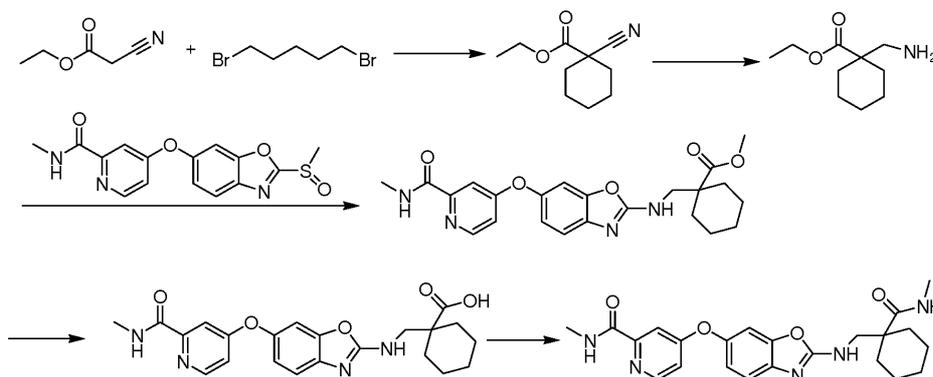
de cesio para dar un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia. De modo alternativo, para el acoplamiento puede usarse una piridina halogenada.

Esquema 2 de referencia



- 5 En el esquema 2 de referencia, se introduce un grupo alquilo en un tiol-benzoxazol o derivado de él, en el fragmento tiol. El tiol-benzoxazol con grupo alquilo es acoplado con la correspondiente halopiridina tal como cloro-
 piridina en presencia de una base tal como carbonato de cesio para dar un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos
 de referencia. La benzoxazoliloxipiridina resultante es oxidada, por ejemplo, con mCPBA. Pueden usarse otros
 10 agentes oxidantes para oxidar el tiol hasta un sulfóxido. Otros agentes oxidantes incluyen, pero no están limitados
 a, peróxido de hidrógeno, peryodato de sodio, clorocromato que piridina o trióxido de cromo. El sulfóxido de la
 benzoxazoliloxi-piridina es sometido a ataque nucleofílico con una amina para dar un compuesto de los Ejemplos o
 Ejemplos de referencia.

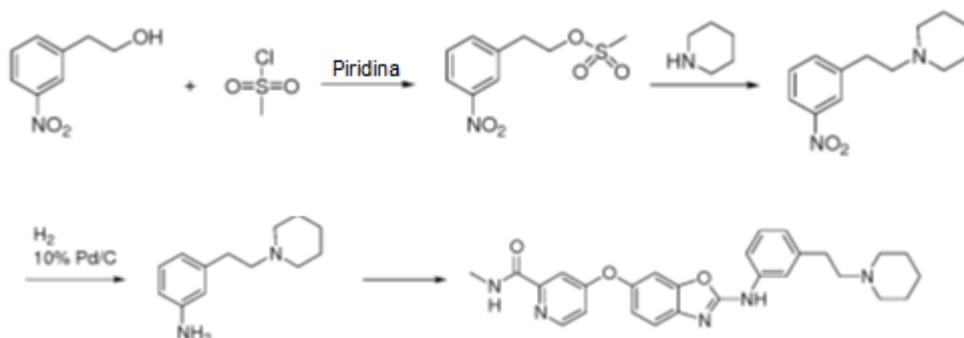
Esquema 3 de referencia



- 15 En el esquema 3 de referencia, se acoplan cianoacetato y 1,5-dibromopentano para formar etil éster de ácido 1-
 ciano-ciclohexano carboxílico, después de la formación de ciclo. Este producto es reducido con hidrógeno y níquel
 Raney. Pueden usarse otros agentes reductores para reducir el grupo nitrilo hasta una amina. Otros agentes
 reductores incluyen, pero no están limitados a, hidrogenación catalítica usando óxido de platino o níquel Raney o
 20 hidruro de litio y aluminio, hidruro de diisobutil aluminio, borohidruro de sodio, o trietilborohidruro de litio. El producto
 reducido es acoplado con sulfoxi-benzoxazoliloxi-piridina. El producto resultante de la reacción de acoplamiento
 puede ser adicionalmente funcionalizado o transformado en derivado. Por ejemplo, en el esquema 3 de referencia,
 un grupo éster puede ser convertido en un grupo ácido carboxílico por hidrólisis y luego convertido en una amida
 por reacción con una amina. Estas reacciones son conversiones bien conocidas por alguien experto en la técnica.

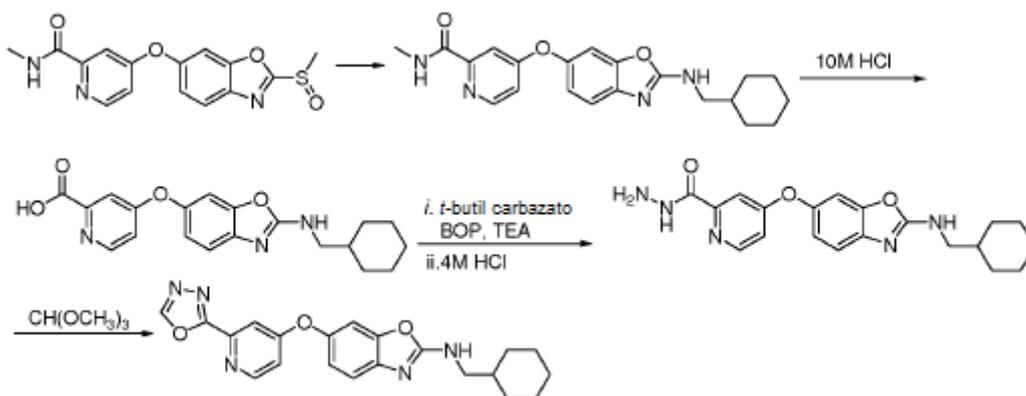
25

Esquema 4 de referencia



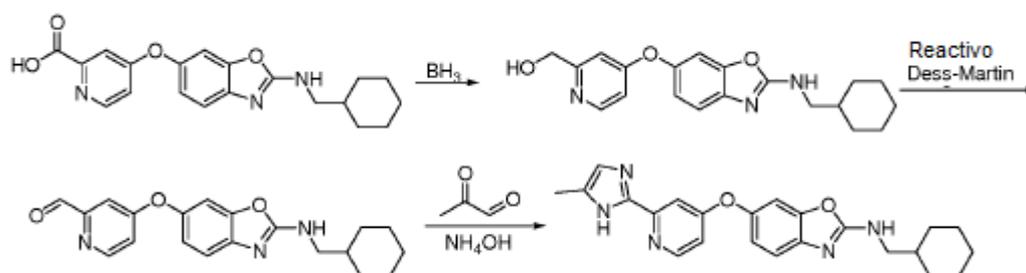
- 5 En el esquema 4 de referencia, 3-(2-piperidin-1-il-etil)-fenilamina es un ejemplo de una amina que puede ser usada para formar un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia. 3-(2-piperidin-1-il-etil)-fenilamina es formada por la sulfonación de 2-(3-nitrofenil)-etanol, luego introducción de amina en el 2-(3-nitrofenil)etil éster de ácido metanosulfónico resultante, y a continuación reducción de la 1-[2-(3-nitrofenil)-etil]-piperidina resultante.

Esquema 5 de referencia



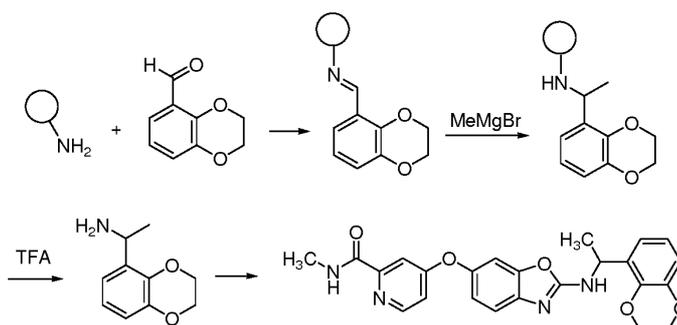
- 10 En el esquema 5 de referencia, con ciclohexilmetanamina se introduce amina en 4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida. La 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida resultante es entonces hidrolizada para formar ácido 4-[2-(ciclohexilmetil-amino)-benzooxazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico. El ácido 4-[2-(ciclohexilmetil-amino)-benzooxazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico reacciona entonces con hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxtiris(dimetilamino)-fosfonio, tert-butil carbazato, y trietil amina para formar 4-(2-(ciclohexilmetilamino) benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-carbohidrazida. La 4-(2-
- 15 (ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-carbohidrazida reacciona entonces con trimetil ortoformiato para formar un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia.

Esquema 6 de referencia



En el esquema 6 de referencia, puede funcionalizarse adicionalmente un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia. Por ejemplo, el ácido 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-carboxílico es reducido hasta {4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-il}-metanol con borano. Otros agentes reductores adecuados incluyen, pero no están limitados a, hidruro de litio y aluminio, hidruro de aluminio, hidruro de diisobutil aluminio, borohidruro de sodio, o trietilborohidruro de litio. El {4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-il}-metanol es entonces oxidado hasta 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-carbaldehído con reactivo de Dess-martin. Otros agentes oxidantes adecuados incluyen, pero no están limitados a, clorocromato de piridinio, SO₃ piridina en DMSO, o condiciones comúnmente denominadas como una oxidación de Swern o Moffet. 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)piridin-2-carbaldehído es convertido entonces en ciclohexilmetil-{6-[2-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-piridin-4-iloxi]-benzooxazol-2-il}-amina mediante reacción con aldehído pirúvico.

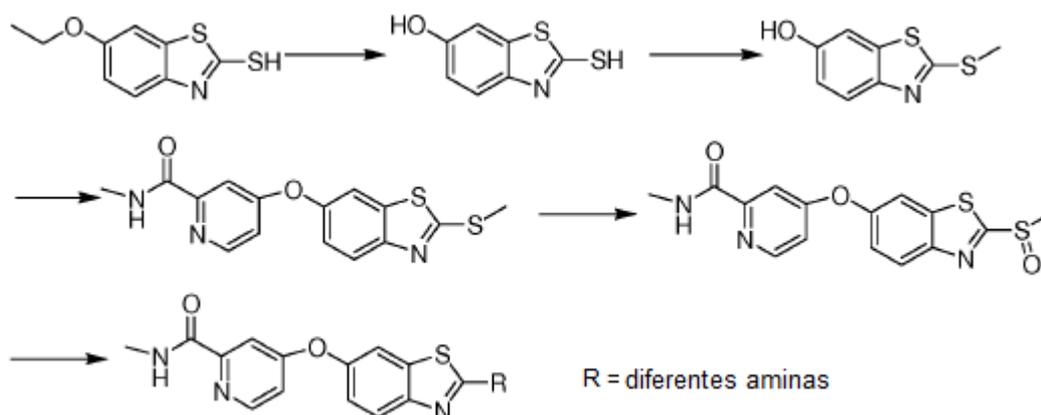
Esquema 7 de referencia



En el esquema 7 de referencia, se sintetiza un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia por reacción de metilamida de ácido de 4-(2-(metanosulfonil-benzooxazol-6-iloxi)piridin-2-carboxílico (del Ejemplo 2) con 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamina. En un caso, la 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamina es sintetizada vía una resina.

Una amina unida a una resina reacciona con 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-carbaldehído, dando así C-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-metilamina. La C-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-metilamina es transformada en derivado con introducción de grupo alquilo en el sitio imino, tal como con bromuro de metil magnesio. De acuerdo con la molécula deseada, pueden usarse otros agentes de introducción de grupo alquilo. La 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamina resultante es escindida de la resina. Un ejemplo de un agente de escisión de la resina es ácido trifluoroacético (TFA). La 1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamina resultante puede ser usada para la síntesis de un compuesto de los Ejemplos o Ejemplos de referencia. Por ejemplo, puede usarse 1-(2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamina para reaccionar con metilamida de ácido 4-(2-(metanosulfonil-benzooxazol-6-iloxi)piridin-2-carboxílico para formar metilamida de ácido 4-{2-[1-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-5-il)-etilamino]-benzooxazol-6-iloxi}piridin-2-carboxílico.

Esquema 8 de referencia

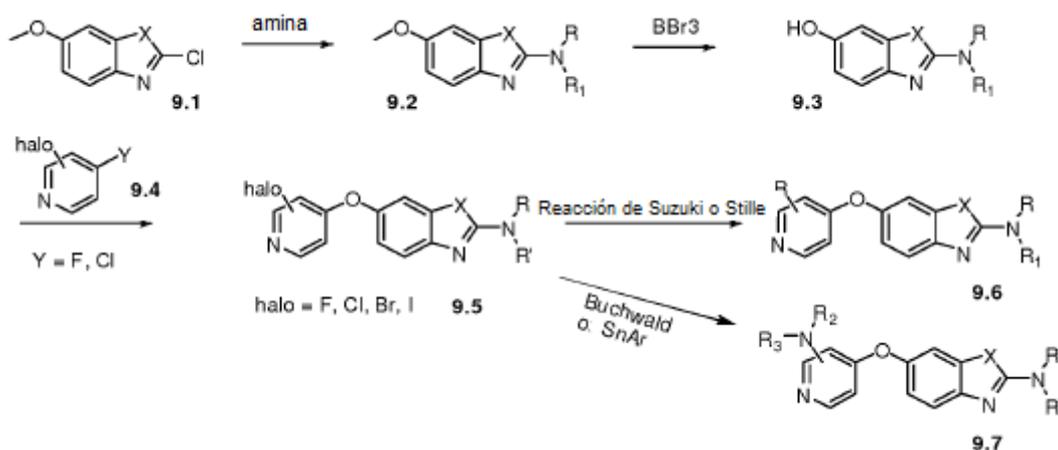


En el esquema 8 de referencia, se preparó 2-mercapto-benzotiazol-6-ol de acuerdo con el documento de EEUU No. 4,873,346. El 2-mercapto-benzotiazol-6-ol es convertido entonces en 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol vía

procedimientos convencionales para retirar un grupo éter protector. La reacción de 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol con yoduro de metilo provee la introducción de grupo alquilo en la posición tiol. La reacción de 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol con metilamida de ácido 4-cloro-piridin-2-carboxílico da metilamida de ácido 4-(2-metilsulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico. La subsiguiente oxidación de metilamida de ácido 4-(2-metilsulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico da metilamida de ácido 4-(2-metanosulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico. La metilamida de ácido 4-(2-metanosulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico puede ser un sustrato para reacción con diferentes aminas. Por ejemplo, metilamida del ácido 4-(2-metanosulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico puede reaccionar con ciclohexilmetilamina para dar metilamida del ácido 4-[2-(ciclohexilmetil-amino)-benzotiazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico.

10

Esquema 9 de referencia

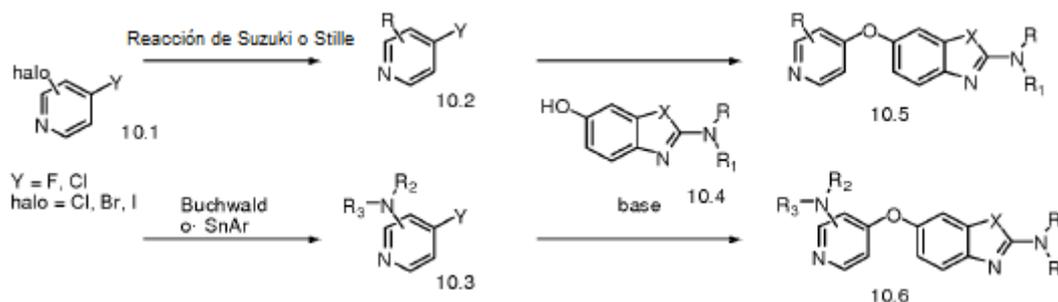


15

20

En el esquema 9 de referencia, los benzoxazoles o benzotiazoles de la fórmula 9.1 pueden reaccionar con una amina sustituida para suministrar productos intermedios de la fórmula 9.2. El tratamiento de productos intermedios de la fórmula 9.2 con un reactivo tal como, por ejemplo, BBr_3 suministra fenoles de la fórmula 9.3. El tratamiento subsiguiente de productos intermedios de la fórmula 9.3 con 4-halo piridinas de la fórmula 9.4 a temperaturas que varían generalmente de, pero no limitadas a, temperatura ambiente a $130^\circ C$ suministra en presencia de una base tal como, por ejemplo carbonato de potasio o cesio, compuestos de la fórmula 9.5. El tratamiento tradicional con ácidos borónicos o estannanos bajo condiciones conocidas por aquellos que tienen práctica en la técnica, como reacciones de Suzuki o Stille suministra compuestos de la fórmula 9.6. Adicionalmente, el tratamiento de un compuesto de la fórmula 9.5 con una amina sustituida bajo condiciones conocidas por aquellos con práctica en la técnica para una reacción de Buchwald o reacción con $SnAr$, suministra compuestos de la fórmula 9.7.

Esquema 10 de referencia



25

30

En el esquema 10 de referencia, pueden prepararse los benzoxazoles o benzotiazoles de las fórmulas 10.5 y 10.6 partiendo de una 4-halopiridina de la fórmula 10.1 la cual puede (1) tratada con ácidos borónicos o estannanos bajo condiciones conocidas por aquellos con práctica en la técnica, como reacciones de Suzuki o Stille, suministrar productos intermedios de la fórmula 10.2 o (2) reaccionando con una amina sustituida bajo condiciones conocidas por aquellos con práctica en la técnica, mediante una reacción de Buchwald o reacción con $SnAr$, suministrar productos intermedios de la fórmula 10.3. La reacción subsiguiente de productos intermedios de la fórmula 10.2 o 10.3 con un producto fenólico intermedio de la fórmula 10.4 en presencia de a base tal como, por ejemplo, carbonato de potasio o cesio en un solvente tal como, por ejemplo, dimetil formamida, acetonitrilo o dioxano,

suministra compuestos de la fórmula 10.5 y 10.6.

Ejemplos

En relación con los Ejemplos y Ejemplos de referencia que siguen, se sintetizaron compuestos de las realizaciones preferidas, usando los métodos descritos aquí, u otros métodos, que son conocidos en la técnica.

5 Los compuestos y/o productos intermedios fueron caracterizados mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando un sistema de cromatografía Waters Millennium con un módulo de separación 2695 (Milford, MA). Las columnas analíticas eran Phenomenex Luna de fase inversa C18 -5 μ , 4.6 x 50 mm, de Alltech (Deerfield, IL). Se usó un gradiente de elución (flujo 2.5 mL/min), iniciando típicamente con 5% de acetonitrilo/95% de agua y progresando hasta 100% de acetonitrilo en un periodo de 10 minutos. Todos los solventes contenían 0.1
10 % de ácido trifluoroacético (TFA). Los compuestos fueron detectados mediante absorción de luz ultravioleta (UV) a 220 o 254 nm. Los solventes HPLC eran de Burdick y Jackson (Muskegan, MI), o Fisher Scientific (Pittsburgh, PA).

En algunos casos, se evaluó la pureza mediante cromatografía de capa delgada (TLC) usando placas de vidrio o plástico cubiertas con gel de sílice, tal como, por ejemplo, láminas flexibles Baker-Flex Silica Gel 1B2-F. Los resultados de TLC fueron detectados fácilmente en forma visual bajo luz ultravioleta, o empleando vapor de yodo u
15 otras diferentes técnicas de tinción bien conocidas.

Se ejecutó análisis de espectrometría de masas en uno de dos instrumentos LCMS: un Waters System (Alliance HT HPLC y un espectrómetro de masas Micromass ZQ; columna: Eclipse XDB-C18, 2.1 x 50 mm; gradiente: 5-95% (o 35-95%, o 65-95% o 95-95%) de acetonitrilo en agua con 0.05% de TFA en un periodo de 4 min; rata de flujo 0.8
20 mL/min; intervalo de peso molecular 200-1500; voltaje de cono 20 V; temperatura de columna 40°C) o un Hewlett Packard System (serie 1100 HPLC; columna: Eclipse XDB-C18, 2.1 x 50 mm; gradiente: 5-95% acetonitrilo en agua con 0.05% de TFA en un periodo de 4 min; rata de flujo 0.8 mL/min; intervalo de peso molecular 150-850; voltaje de cono 50 V; temperatura de columna 30°C). todas las masas fueron reportadas como las de los iones progenitores protonados.

El análisis por GCMS es ejecutado en un instrumento Hewlett Packard (cromatógrafo de gases serie HP6890 con un detector selectivo de masas 5973; volumen de inyector: 1 μ L; temperatura inicial de columna: 50°C; temperatura final de columna: 250°C; tiempo de rampa: 20 minutos; rata de flujo de gas: 1 mL/min; columna: 5% fenil metil siloxano, modelo No. HP 190915-443, dimensiones: 30.0 m x 25 m x 0.25 m).

El análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) fue ejecutado sobre algunos de los compuestos con un Varian 300 MHz NMR (Palo Alto, CA). La referencia espectral fue TMS o el desplazamiento químico conocido del solvente.
30 Se corrieron algunas muestras de compuesto a elevadas temperaturas (por ejemplo 75°C) para promover el aumento en la solubilidad de la muestra.

La pureza de algunos de los compuestos fue evaluada mediante análisis elemental (Desert Analytics, Tucson, AZ).

Los puntos de fusión son determinados en un aparato Laboratory Devices Mel-temp (Holliston, MA).

Las separaciones preparadas activas son llevadas a cabo usando un sistema de cromatografía Flash 40 y KP-Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, VA), o mediante cromatografía instantánea en columna usando gel de sílice (malla 230-400) como material empacado, o mediante HPLC usando un Waters 2767 Sample Manager, columna C-18 de fase inversa, 30X50 mm, flujo 75 mL/min. Los solventes típicos empleados para el sistema Flash 40 Biotage y cromatografía instantánea en columna son diclorometano, metanol, etil acetato, hexano, acetona, amoníaco acuoso (o hidróxido de amonio), y trietil amina. Los solventes típicos empleados para la HPLC de fase inversa son
40 concentraciones variables de acetonitrilo y agua con 0.1% de ácido trifluoroacético.

Debería entenderse que los compuestos orgánicos de acuerdo con las realizaciones preferidas, pueden exhibir el fenómeno de tautomerismo. Como las estructuras que está dentro de esta especificación pueden representar solamente una de las posibles formas tautoméricas, debería entenderse que las realizaciones preferidas abarcan cualquier forma tautomérica de la estructura dibujada.

45 En los ejemplos abajo así como a lo largo de todo el documento, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si no se define, los términos tienen sus significados generalmente aceptados.

Abreviaturas

ACN Acetonitrilo

BINAP 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo

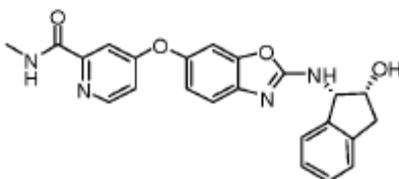
50 DCM Diclorometano

- DIEA Diisopropiletilamina
 DIPEA N,N-diisopropiletilamina
 DME 1,2-dimetoxietano
 DMF N,N-dimetilformamida
 5 DMSO Dimetil sulfóxido
 DPPF 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
 EtOAc Etil acetato
 EtOH Etanol
 HATU 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato
 10 HPLC Cromatografía líquida de alto rendimiento
 MCPBA Acido meta-cloroperoxibenzoico
 MeOH Metanol
 NBS N-bromosuccinimida
 NMP N-metil-2-pirrolidona
 15 RT temperatura ambiente
 THF Tetrahidrofurano

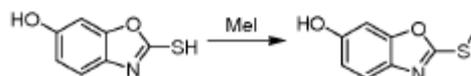
Compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4

Ejemplo 2 de referencia

- 20 Metilamida de ácido 4-[2-((1S,2R)-2-hidroxi-indan-1-ilamino)-benzoxazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico (Tabla 2, compuesto 50)

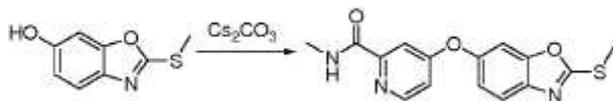


Paso 1. Síntesis de 2-(metiltio)benzo[d]oxazol-6-ol



- 25 A una solución de 2-mercaptobenzo[d]oxazol-6-ol (1.55 g, 9.28 mmol, 1.0 eq) en 20 mL de cloruro de metileno se añadió trietilamina (1.87 g, 18.56 mmol, 2.0 eq) y yoduro de metilo (1.77 g, 13.92 mmol, 1.5 eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 3 horas. Se diluyó la mezcla con 100 mL de cloruro de metileno. La mezcla resultante fue lavada con agua (10 mL), salmuera (10mL), luego secada sobre MgSO₄, filtrada, y evaporada bajo presión reducida para dar producto crudo, el cual fue purificado por columna de gel de sílice con elución con etil acetato y hexano para dar el compuesto del título. MH⁺ = 182.

- 30 Paso 2. Síntesis de 4-(2-(metiltio)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida



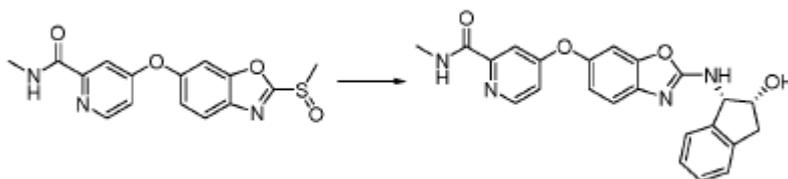
- 5 A una solución de 2-(metiltio)benzo[d]oxazol-6-ol (8.5 g, 46.7 mmol, 1 eq) en 80 mL de N,N-dimetilformamida se añadió 4-cloro-N-metilpiridin-2-carboxamida (16.0 g, 93.4 mmol, 2.0 eq) y carbonato de cesio (45.7 g, 140.1 mmol, 3.0 eq). Se agitó la mezcla de reacción a 75°C por 6 horas. Una vez la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se le añadieron 120 mL de agua. Después de la filtración se purificó el sólido mediante columna de gel de sílice con elución con etil acetato y hexano para dar el compuesto del título. MH+ = 316.

Paso 3. Síntesis de 4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida



- 10 A una solución de 4-(2-(metiltio)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida (1.26 g, 4.0 mmol, 1.0 eq) en 40 mL de cloruro de metileno se agregó ácido 3-cloroperoxisbenzoico (70%, 989 mg, 4.4 mmol, 1.1 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 5 horas y luego se diluyó con 200 mL de cloruro de metileno. La mezcla resultante fue lavada con bicarbonato de sodio acuoso y salmuera, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró, y se evaporó bajo presión reducida para dar producto crudo, el cual fue usado en el siguiente paso sin purificación adicional. MH+ = 332.

- 15 Paso 4. Metilamida de ácido 4-[2-((1S,2R)-2-hidroxi-indan-1-ilamino)-benzoxazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico

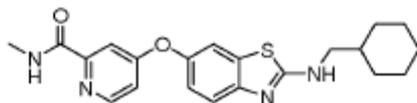


- 20 Se calentó una solución de 4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpiridin-2-carboxamida (17 mg, 0.05 mmol, 1.0 eq) y (1S,2R)-1-amino-2,3-dihidro-1H-inden-2-ol (30 mg, 0.2 mml, 4.0 eq) en 1 mL de N,N-dimetilacetamida, en el horno microondas a 90°C por 600 segundos. El producto crudo fue purificado mediante HPLC preparativa de fase inversa para dar el compuesto del título. MH= = 417.0.

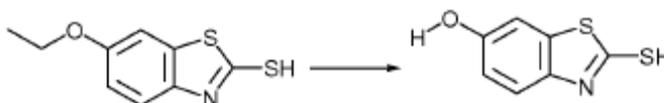
Ejemplo 15 de referencia (esquema 8 de referencia)

Preparación de metilamida de ácido 4-[2-(ciclohexilmetil-amino)-benzotiazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico

(Tabla 2, compuesto 128)



- 25 Paso 1. Preparación de 2-mercapto-benzotiazol-6-ol



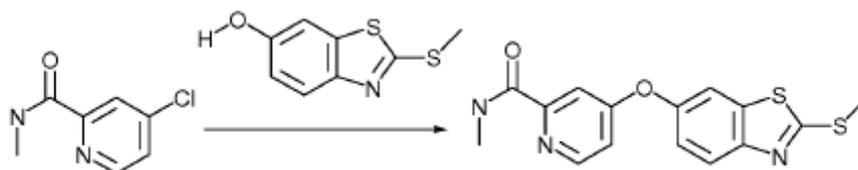
Según el documento de EEUU 4,873,346 - Substituted Benzothiazoles, Benzimidazoles and benzoxazoles; Anderson, David J.; The Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan; 10 de octubre de 1989. M+H = 184.0

Paso 2. Preparación de 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol



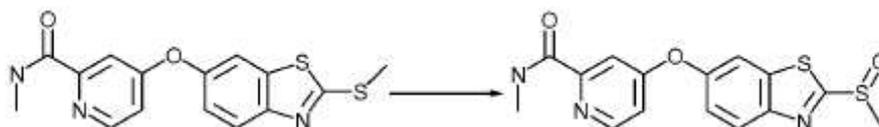
5 A la solución enfriada con hielo de 2-mercapto-benzotiazol-6-ol del paso 1 (3.80g, 20.76 mmol, 1.0 eq) en DCM (40mL, 0.5M) a 0°C, se añadió trietilamina (7.29mL, 51.91 mmol, 2.5 eq) seguido por yodometano (1.93mL, 31.14mmol, 1.5eq). Se agitó la reacción desde 0°C a -10°C por 3 horas. Se retiró al vacío el solvente. Se añadió agua (aproximadamente 200mL) y se realizó extracción de la capa acuosa con etilo acetato (3X150mL). Se secó la capa orgánica sobre sodio de sodio, se filtró, y se evaporó al vacío para dar 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol como polvo verde claro (3.76g, 92%). El producto crudo fue usado en el siguiente paso sin purificación. M+H = 198.0

Paso 3. Preparación de metilamida de ácido 4-(2-metilsulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico



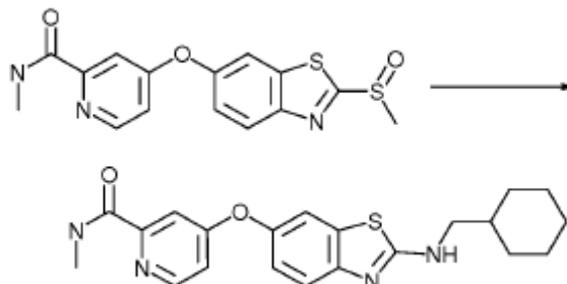
10 A la solución de 2-metilsulfanil-benzotiazol-6-ol (3.76g, 19.08mmol, 1.0eq) en DMF (25mL), se añadió CsCO₃ (15.54g, 47.70 mmol, 2.5 eq) a temperatura ambiente. Después de agitar por un rato, se añadió a la mezcla metilamida de ácido 4-cloro-piridin-2-carboxílico (4.86g, 28.62mmol, 1.5eq) y se agitó la mezcla a 70°C bajo condensador de reflujo durante la noche. Después de enfriar en baño de hielo la mezcla de reacción, se añadió agua (100mL) y se realizó extracción a la capa acuosa con etilo acetato (3X150mL). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró, y se evaporó al vacío. Se purificó el producto crudo usando 20g de columna ISCO Silica Gel (0%-50%-80%-100% de mezcla de etil acetato durante 45 min, corrida a 40mL/min) para dar metilamida de ácido 4-(2-metilsulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico (3.88g, 62%) como un sólido blanco. M+H = 332.1

Paso 4. Preparación de metilamida de ácido 4-(2-metanosulfonil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico



20 A la solución de metilamida de ácido 4-(2-metilsulfanil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico del paso 3 (3.88g, 11.72mmol, 1.0eq) en DCM (20mL) at 0°C, se añadió MCPBA (77%, 2.88g, 1.1eq). Se agitó la mezcla a esta temperatura por una hora. Se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio (100mL). Se realizó extracción a la capa acuosa con DCM (3X150mL). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró, y se evaporó al vacío para dar metilamida de ácido 4-(2-metanosulfonil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico como un polvo blanco, en rendimientos cuantitativos. El producto crudo fue usado en el siguiente paso sin purificación. M+H = 348.0.

Paso 5. Preparación de metilamida del ácido 4-[2-(ciclohexilmetil-amino)-benzotiazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico

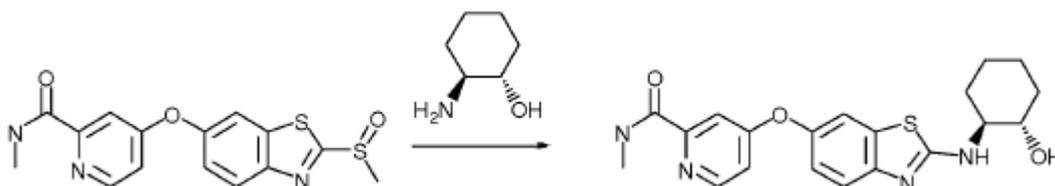


A la solución de metilamida del ácido 4-(2-metanosulfonil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico (25mg, 0.072

mmol, 1.0eq) en DMF (500 μ L), se añadió ciclohexilmetilamina (18.7 μ L, 0.144 mmol, 2.0eq) y se agitó la reacción a 70°C durante la noche. Se purificó la mezcla de reacción sobre HPLC preparativa en fase inversa. Las fracciones puras fueron liofilizadas como sal de TFAs. M+H = 397.1

Ejemplo 16

- 5 Preparación de 4-(2-((1S,2S)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida (Tabla 2, compuesto 137)



- 10 A la solución de metilamida de ácido 4-(2-metanosulfinil-benzotiazol-6-iloxi)-piridin-2-carboxílico (70mg, 0.202 mmol, 1.0eq; Ejemplo 15 de referencia-paso 4) en DMA (600 μ L), se añadió clorhidrato de (1S,2S)-2-aminociclohexanol (92 mg, 0.606 mmol, 3.0eq) seguido de diisopropiletilamina (0.21 mL, 1.21 mmol). Se calentó la reacción a 110 °C por 24 horas. Se purificó la mezcla de reacción sobre HPLC preparativa en fase inversa. Las fracciones puras fueron liofilizadas como sal de TFAs. M+H = 398

Los compuestos en la siguiente Tabla 2 fueron hechos mediante los procedimientos generales descritos arriba.

Tabla 2

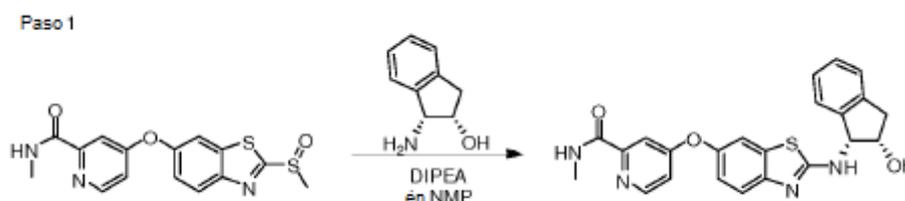
| Compuesto | Estructura | M+H; Rt(min) | Nombre el compuesto |
|-----------|------------|-----------------|--|
| 52 | | 383.0; 1.94 | Metilamida de ácido 4-[2-((1S,2S)-2-hidroxiciclohexilamino)-benzooxazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico |
| 137 | | 399.1; 1.94 | Metilamida de ácido 4-[2-((1S,2S)-2-hidroxiciclohexilamino)-benzotiazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico |
| 157 | | 399.1; 1.94 | Metilamida de ácido 4-[2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-benzotiazol-6-iloxi]-piridin-2-carboxílico |

15

Ejemplo 162 de referencia

Preparación de 4-(2-((1R,2S)-2-hidroxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida

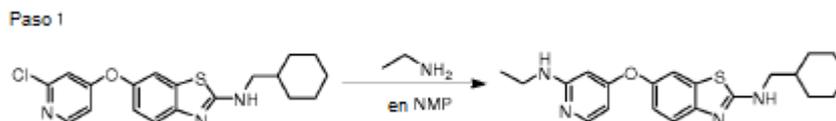
El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo



5 A la solución de N-metil-4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida (300 mg, 0.86 mmol) en 5 ml de NMP se añadió (1R,2S)-1-amino-2,3-dihidro-1H-inden-2-ol (597 mg, 4 mmol) y DIPEA (300 μ L, 1.73 mmol). Se agitó la solución de reacción a 105°C por 24 horas. La solución cruda de reacción fue purificada en HPLC preparativa y evaporada al vacío para dar 4-(2-((1R,2S)-2-hidroxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida (347 mg, 0.63 mmol) como sal de TFA. ES/MS m/z 433.1(MH+).

Ejemplo 170 de referencia

Preparación de N-(ciclohexilmetil)-6-(2-(etilamino)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-amina

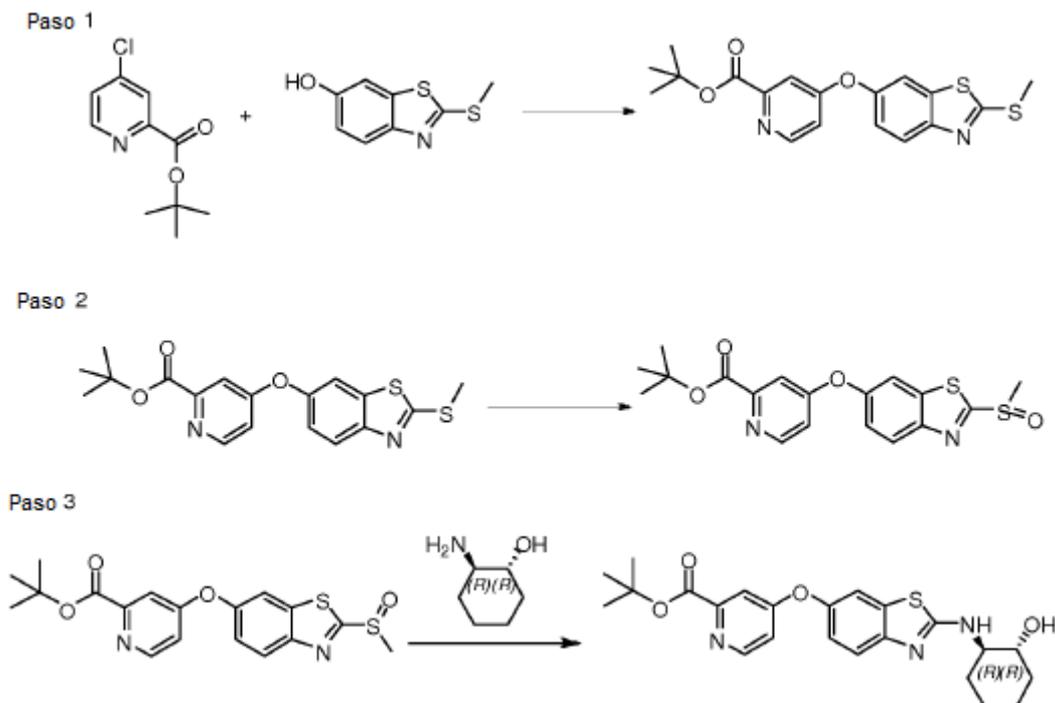


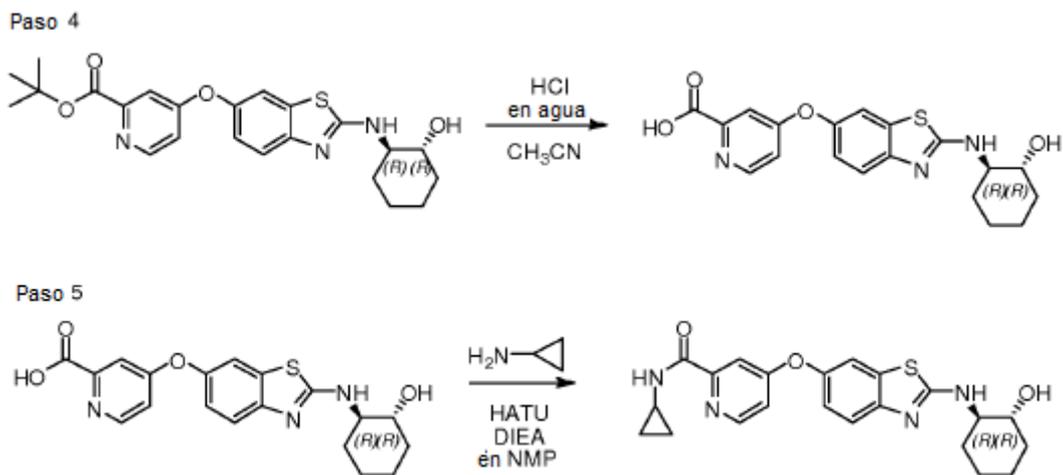
10 A la solución de reacción de 6-(2-cloropiridin-4-iloxi)-N-(ciclohexilmetil) benzo[d]tiazol-2-amina (12 mg, 0.03 mmol) en 400 μ L de NMP se añadió DIPEA (9 μ L, 0.05 mmol) y 70% de etilamina en agua (200 μ L, 2.51 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 110 °C por 96 horas o hasta que estuvo terminada, según LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y evaporada al vacío para dar N-(ciclohexilmetil)-6-(2-(etilamino)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-amina como sal de TFA (1.8 mg). ES/MS m/z 383.1 (MH+).

Ejemplo 171

15 N-ciclopropil-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:





Paso 1. Síntesis de tert-butil 4-(2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato

A una solución de 2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-ol (5.0 g, 25.38 mmol, 1.0 eq) en 25 mL de N,N-dimetilformamida se añadió tert-butil 4-cloropicolinato (8.13 g, 38.07 mmol, 1.5 eq) y carbonato de cesio (20.67 g, 63.45 mmol, 2.5 eq). Se agitó la mezcla de reacción a 75°C por 6 horas. Una vez la mezcla enfrió a temperatura ambiente, se añadieron a la mezcla 120 mL de agua y se realizó extracción a la fase acuosa con etil acetato (3X150mL), se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas. Después de la filtración, se purificó el sólido por columna de gel de sílice con elución con mezcla de etil acetato-hexano 0%-50% para dar 5.84g del compuesto del título como polvo marrón (62%). MH+ = 375.

Paso 2. Síntesis de tert-butil 4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi) picolinato

A una solución de tert-butil 4-(2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato (5.84 g, 15.61 mmol, 1.0 eq) en 25 mL de cloruro de metileno se añadió ácido 3-cloroperoxisulfónico (77%, 3.84 g, 17.17 mmol, 1.1 eq). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 1.5 horas y luego se diluyó con 200 mL de cloruro de metileno. Se lavó la mezcla resultante con bicarbonato de sodio acuoso y salmuera, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró, y evaporó bajo presión producida para dar producto crudo, el cual fue usado en el siguiente paso sin purificación adicional. MH+ = 391.0.

Paso 3. Preparación de tert-butil 4-(2-((1R,2R)-2 hidroxiciclohexilamino)-benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato

A la solución de tert-butil 4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato (500 mg, 1.25 mmol) en 10 ml de NMP se añadió (1R,2R)-ciclohexano-1,2-diamina (581 mg, 3.84 mmol) y DIPEA (0.995 ml, 5.76 mmol). Se agitó la solución de reacción a 100°C por 3 días. La solución cruda de reacción fue purificada en HPLC preparativa y evaporada al vacío para dar tert-butil 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato (240 mg, 0.544 mmol) como un polvo blanco. ES/MS m/z 442.5(MH+).

Paso 4. Preparación de ácido 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolínico

A la solución de tert-butil 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinato (250 mg, 0.566 mmol) en 10 ml de acetonitrilo se añadió ácido clorhídrico 6 M (1 ml, 6 mmol). Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente por 1 hora y luego a 60°C por 2 horas. La solución cruda de reacción fue concentrada y disuelta nuevamente con 10 ml de acetonitrilo. La solución resultante fue evaporada al vacío para dar el producto aceitoso marrón claro ácido 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolínico (215 mg, 0.56 mmol). ES/MS m/z 386.5(MH+).

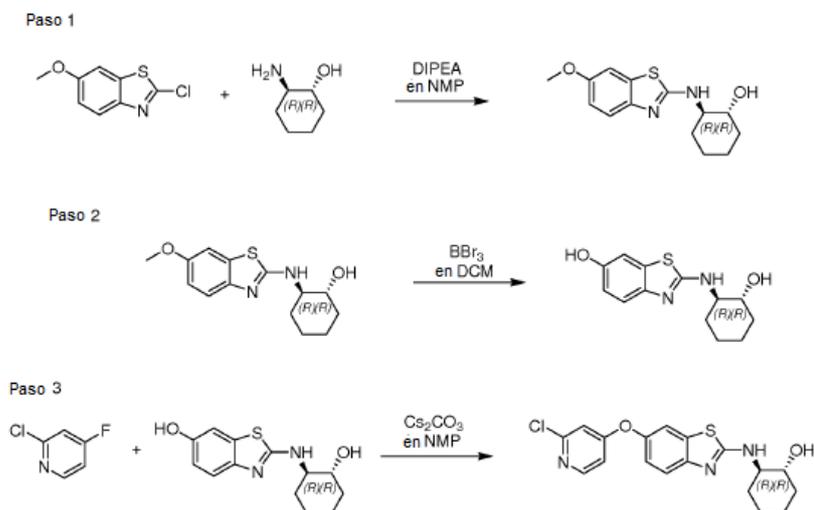
Paso 5. Preparación de N-ciclopropil-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida

A la solución de reacción de ácido 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolínico (5 mg, 39 µmol), HATU (15 mg, 39 µmol) y DIPEA (14 µL, 78 µmol) en 1 ml de NMP se añadió ciclopropilamina (7 µl, 30 µmol). Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente por 12 horas. La solución cruda de reacción fue purificada en HPLC preparativa y evaporada al vacío para dar N-ciclopropil-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida (1 mg, 2.3 µmol) como un polvo blanco. ES/MS m/z 425.2(MH+).

Ejemplo 173

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



5 Paso 1. Preparación de (1R,2R)-2-(6-metoxibenzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la solución de 2-cloro-6-metoxibenzo[d]tiazol (1.0 g, 5 mmol) en 5.5 ml de NMP se añadió clorhidrato de (1R, 2R)-2-aminociclohexanol (910 mg, 6 mmol) y DIPEA (2.44 ml, 14 mmol). Se agitó la solución de reacción a 115°C por 96 horas. La solución cruda de reacción fue purificada mediante HPLC preparativa para dar fracciones purificadas que fueron combinadas y neutralizadas con NaHCO₃ sólido. La solución resultante fue sometida a extracción con etil acetato (2x300ml). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua (60 ml) y salmuera (60 ml), luego se secaron sobre Na₂SO₄ y evaporaron al vacío para dar (1R,2R)-2-(6-metoxibenzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (1.06 g, 3.81 mmol) como un sólido marfil. ES/MS m/z 279.1(MH⁺).

10

Paso 2. Preparación de 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol.

A la solución de (1R, 2R)-2-(6-metoxibenzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (1.06 g, 3.81 mmol) en 16 ml de DCM se añadió tribromuro de boro 1 M en DCM (8 ml, 8 mmol) lentamente a 0°C. Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente por 2 horas. El retiro de todo el solvente al vacío, seguido por la detención de la reacción con agua (aproximadamente 30ml) y solución diluida de NaHCO₃, y extracción de la fase acuosa con etil acetato (3x100ml) y secado de los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄ y subsiguiente retiro de etil acetato al vacío, dio como resultado el producto deseado (1.16 g) como sólido rosa. El residuo fue purificado mediante cromatografía instantánea en columna para dar 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (1.0 g, 3.78 mmol) como sólido marrón. ES/MS m/z 265.1(MH⁺).

20

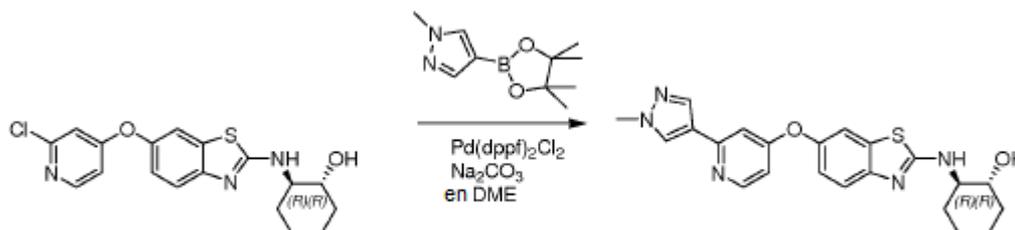
Paso 3. Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la mezcla de 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (265 mg, 1 mmol) y carbonato de cesio (651 mg, 2 mmol) en 3 ml de NMP se añadió 2-cloro-4-fluoropiridina (263 mg, 2 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 60°C por 20 horas. La mezcla cruda de reacción fue filtrada y luego purificada en HPLC preparativa para dar (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como polvo (341 mg, 0.9 mmol). ES/MS m/z 376.0(MH⁺).

25

Ejemplo 174

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol



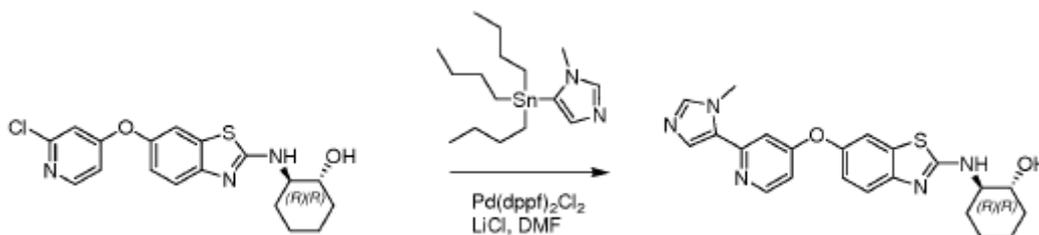
Paso 4. Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (20 mg, 40 μ mol) en 400 μ L de DME, 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (21 mg, 100 μ mol), Pd(dppf)₂Cl₂ (4 mg, 5 μ mol) y Na₂CO₃ 2M (100 μ L, 200 μ mol). Se agitó la mezcla de reacción a 90°C por 24 horas. Se colocó la mezcla de reacción dentro de 10 ml de solución saturada de NaHCO₃ y se realizó extracción con etil acetato (2x30ml). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua (2x10ml) y salmuera (20 ml), luego se secaron sobre Na₂SO₄ y evaporaron al vacío para dar un sólido marrón (65 mg) que fue purificado en HPLC preparativa para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como polvo (6.4 mg). ES/MS m/z 422.2(MH⁺).

Ejemplo 175

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-imidazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



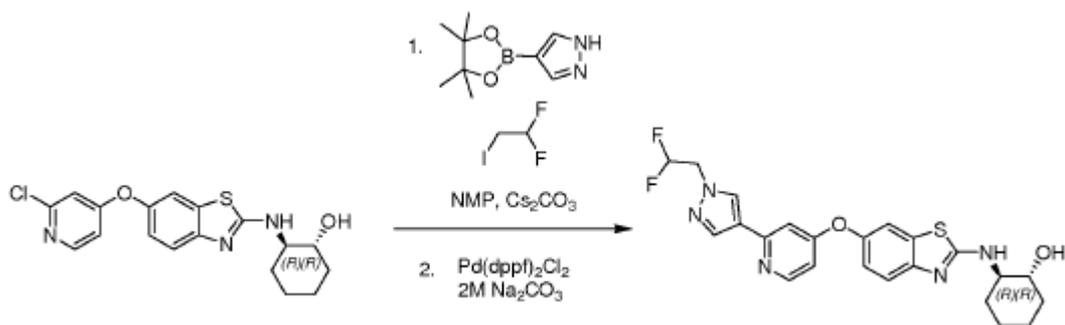
15 Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-imidazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (11 mg, 0.029 mmol) en 0.5 ml de DMF se añadió Pd(dppf)₂Cl₂ (7.2 mg, 0.0088 mmol), LiCl (19 mg, 0.44 mmol) y luego 1-metil-5-(tributilestannil)-1H-imidazol (44 mg, 0.117 mmol). Se agitó la solución de reacción a 105-110 °C por 18 horas o hecha por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-imidazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (3.5 mg). ES/MS m/z 422.1(MH⁺).

Ejemplo 176

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2,2-difluoroetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

25 El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



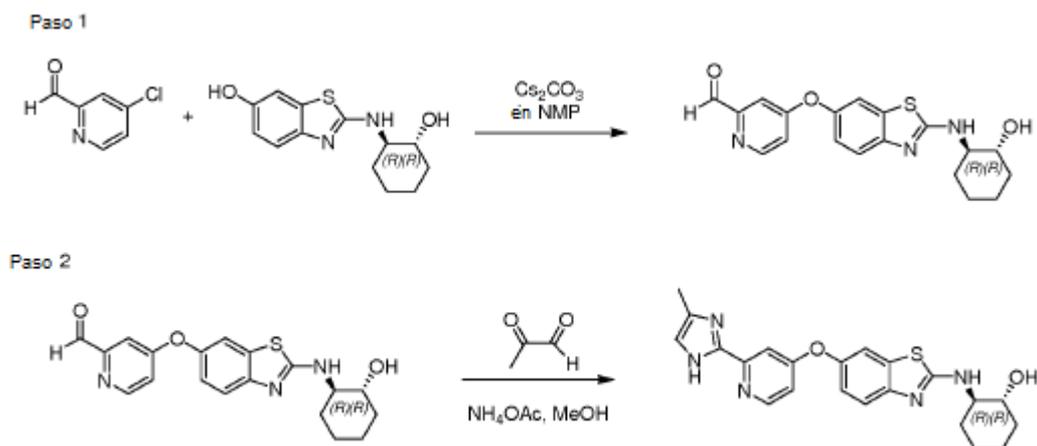
Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2,2-difluoroetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

- 5 A la mezcla de reacción de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (210 mg, 1.08 mmol) en 2.0 ml de NMP se añadió carbonato de cesio (672 mg, 2.06mmol). La mezcla de reacción fue agitada por 5 minutos y luego se añadió 1,1-difluoro-2-yodoetano (197 mg, 1.03 mmol) y se agitó a temperatura ambiente por 40horas. De la anterior mezcla cruda de reacción se retira (0.8 ml, 0.432 mol) y se usa. (El restante 1.2 ml fue almacenado en el congelador). Al 0.8 ml de mezcla de reacción se añaden (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (20 mg, 0.053 mmol), Pd(dppf)₂Cl₂(15.2 mg, 0.019 mmol) y Na₂CO₃ 2M (0.150 ml, 0.3 mmol).
- 10 Se sometió la mezcla de reacción a microondas a 140 °C por 720 segundos. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2,2-difluoroetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (4.6 mg). ES/MS m/z 472.0 (MH⁺).

Ejemplo 177

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(4-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

- 15 El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



Paso 1. Preparación de 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinaldehído.

- 20 A la mezcla de reacción de 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (90 mg, 0.34 mmol) en 1.9 ml de NMP se añadió carbonato de cesio (232 mg, 0.71mmol) y 4-cloropicolinaldehído (125 mg, 0.883 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 10 minutos y entonces se sometió a microondas a 150 °C por 750 segundos. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino) benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinaldehído como sal de TFA (88 mg). ES/MS m/z 388.1(MH⁺) como el hidrato (+18).

Paso 2. Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(4-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

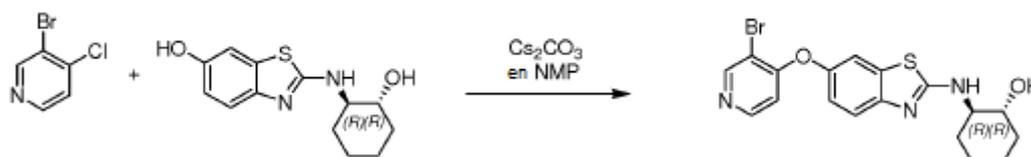
- 25 A la mezcla de reacción de 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinaldehído (16 mg, 0.041 mmol) en 0.75 ml de MeOH se añadió acetato de amonio (32 mg, 0.41 mmol) y solución de 2-oxopropanal al 40% en peso en agua (0.037 ml, 0.21 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70 °C por 2 horas. La mezcla cruda

de reacción fue concentrada, disuelta nuevamente en 0.8 ml de DMF, filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(4-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (3.2 mg). ES/MS m/z 422.1 (MH+).

Ejemplo 178

5 Preparación de (1R,2R)-2-(6-(3-bromopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



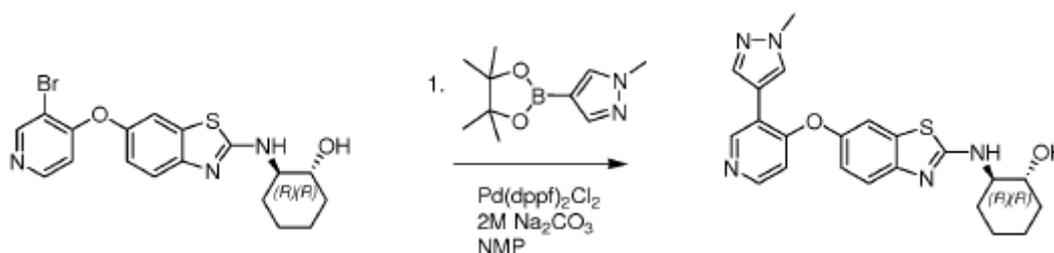
Preparación de (1R,2R)-2-(6-(3-bromopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

10 A la mezcla de reacción de 2-((1R,2R)-2-hidrociclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (12.5 mg, 0.047 mmol) en 0.4 ml de NMP se añadió carbonato de cesio (39 mg, 0.118 mmol) y se agitó a temperatura ambiente por 1-3 minutos. A esta mezcla se añadió 3-bromo-4-cloropiridina (18.2 mg, 0.094 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 90 °C por 4 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada hasta (1R,2R)-2-(6-(3-bromopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (9.2 mg). ES/MS m/z 420.1/422.0 (MH+).

15 Ejemplo 179

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



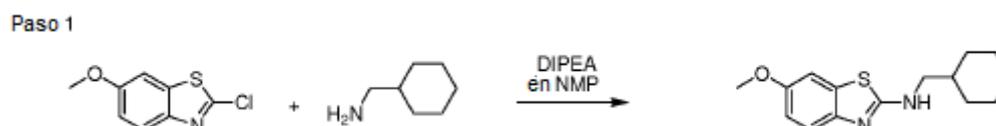
Preparación de (1R,2R)-2-(6-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

20 A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(3-bromopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (15 mg, 0.036 mmol) en 0.5 ml de NMP se añadió Pd(dppf)₂Cl₂ (8.8 mg, 0.0107 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (30 mg, 0.143 mmol) y Na₂CO₃ 2M (0.12 ml, 0.24 mmol). Se agitó la solución de reacción a 105-110 °C por 2 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (5.5 mg). ES/MS m/z 422.1 (MH+).

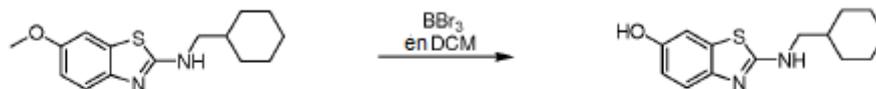
Ejemplo 180 de referencia

Preparación de 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinonitrilo

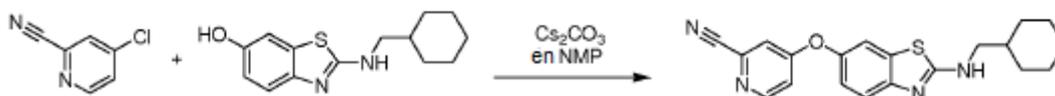
El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



Paso 2



Paso 3



Paso 1. Preparación de N-(ciclohexilmetil)-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina.

A la solución de 2-cloro-6-metoxibenzo[d]tiazol (900 mg, 4.5 mmol) en 4.5 ml de NMP se añadió ciclohexilmetanamina (865 mg, 7.65 mmol) y DIPEA (1.57 ml, 9.0 mmol). Se agitó la solución de reacción a 105-110 °C por 66 horas. la reacción fue desencadenada añadiendo 250 ml de etil acetato y lavada con 2 x 60 ml de NaHCO₃ saturado, 3 x 60 ml de agua, 1 x 60 ml de NaCl saturado, secada con sulfato de sodio, filtrada y concentrada al vacío para dar N-(ciclohexilmetil)-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina como sólido (1.18 gramos). ES/MS m/z 277.1(MH⁺).

Paso 2. Preparación de 2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ol.

A la solución de N-(ciclohexilmetil)-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina (1.40 g, 5.05 mmol) en 12 ml de DCM se añadió tribromuro de boro 1 M en DCM (10.6 ml, 10.6 mmol) lentamente durante aproximadamente 3 minutos a 0 °C. Se agitó la solución de reacción a 0 °C por 20 min y después a temperatura ambiente por 2 hr. Se concentró la mezcla de reacción hasta un sólido. A los sólidos residuales se añadieron 200 ml de etil acetato y 50 ml de agua y se agitó a temperatura ambiente por 10 minutos. Con agitación, cuidadosamente se añadió NaHCO₃ sólido en exceso hasta reacción básica. Agite a temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora para disolver los sólidos. Retire la capa acuosa y realice extracción con 100 ml de etil acetato. Combine las capas orgánicas y lave con 1 x 30 ml de agua, 1 x 25 ml de solución saturada de NaCl y seque con sulfato de sodio. Se filtró esta mezcla a través de un tapón de gel de sílice (1.25 plg. x 3 plg.) y se enjuagó con etil acetato. El filtrado fue concentrado bajo presión reducida para dar 2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ol como sólido (1.32 gramos). ES/MS m/z 263.1(MH⁺).

Paso 3. Preparación de 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ilo)picolinonitrilo.

A la mezcla de reacción de 2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (18 mg, 0.068 mmol) en 0.4 ml de NMP se añadió carbonato de cesio (56 mg, 0.171mmol) y se agitó a temperatura ambiente por 1-3 minutos. A esta mezcla se añadió 4-cloropicolinonitrilo (19 mg, 0.136 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 60 °C por 5 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar 4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ilo)picolinonitrilo como sal de TFA (9.8 mg). ES/MS m/z 365.1(MH⁺).

Ejemplo 183

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-morfolinopiridin-4-ilo)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

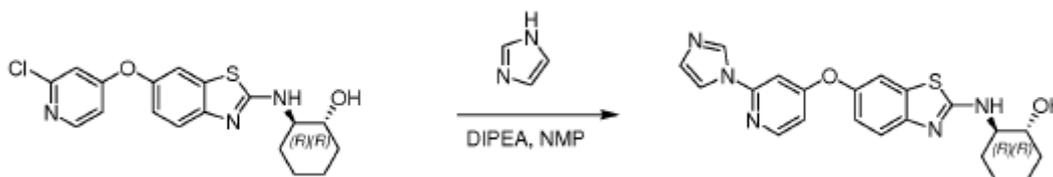


Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-morfolinopiridin-4-ilo)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(2-cloropiridin-4-ilo)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (14 mg, 0.037 mmol) en 0.4 ml de NMP se añadió (DIPEA) diisopropiletilamina (13ul, 0.074 mmol) y morfolina (49 mg, 0.558 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 110 °C por 48 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-morfolinopiridin-4-ilo)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (3.7 mg). ES/MS m/z 427.1(MH⁺).

Ejemplo 187

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-imidazol-1-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

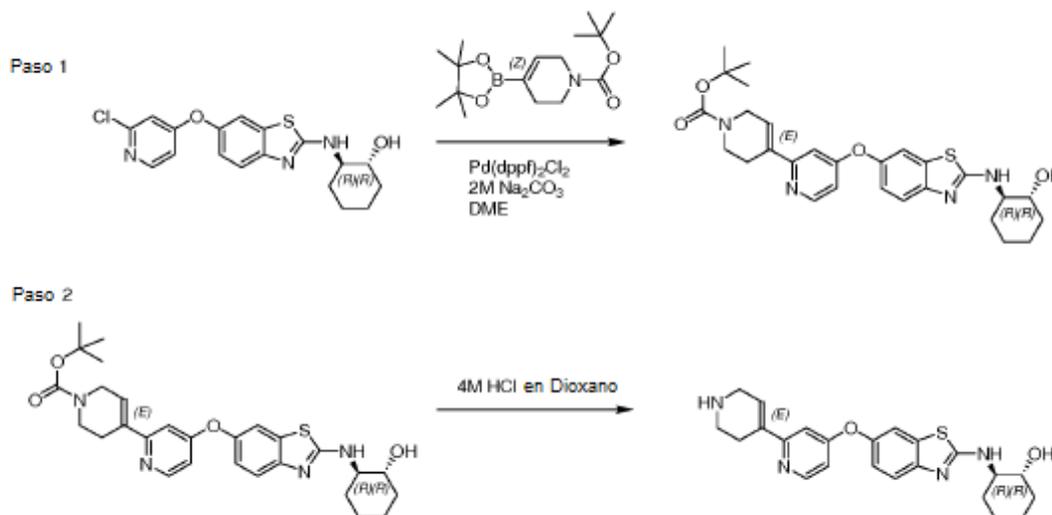


Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-imidazol-1-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

- 5 A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(2-(4-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (12 mg, 0.032 mmol) en 0.55 ml de NMP se añadió (DIPEA) diisopropiletilamina (17ul, 0.096 mmol) y 1H-imidazol (180 mg, 2.64 mmol). Se hizo seguimiento a la mezcla de reacción mediante LC, LCMS y se aplicó microondas como sigue: (150 °C por 750 segundos, 230 °C por 750 segundos, 250 °C por 1000 segundos, nuevamente a 250 °C por 1000 segundos). La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-imidazol-1-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (1.4 mg). ES/MS m/z 408.2(MH+).
- 10

Ejemplo 188

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1,2,3,6-tetrahidropiridin-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol



- 15 Paso 1. Preparación de tert-butil 4-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato.

- A la mezcla de reacción de (1R,2R)-2-(6-(2-(4-cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol (11 mg, 0.029 mmol) en 0.5 ml de DME, se añadió tert-butil 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato (36 mg, 0.117 mmol), Pd(dppf)₂Cl₂ (7.2 mg, 0.0088 mmol) y Na₂CO₃ 2M (0.125 ml, 0.25 mmol). Se agitó la solución de reacción a 105-110 °C por 24 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue concentrada hasta sólido, disuelta nuevamente en 0.8 ml DMF, filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar tert-butil 4-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato como sal de TFA (2.5 mg). ES/MS m/z 523.1(MH+).
- 20

Paso 2. Preparación de (1R,2R)-2-(6-(2-(1,2,3,6-tetrahidropiridin-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

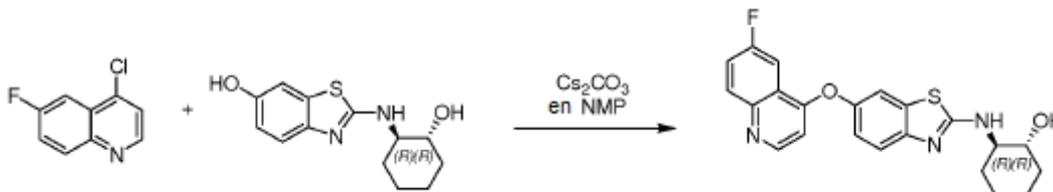
- 25 Al sólido de tert-butil 4-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato (2.5 mg, 0.0039 mmol) se añadió 4M HCL en dioxano (1 ml, 4.0 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 45 minutos. La mezcla cruda de reacción fue concentrada hasta sólido y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(2-(1,2,3,6-tetrahidropiridin-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

como sal de HCl (1.4 mg). ES/MS m/z 423.1(MH+).

Ejemplo 192 de referencia

Preparación de (1R,2R)-2-(6-(6-fluoroquinolin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol

El compuesto del objeto fue preparado de acuerdo con el esquema general de abajo:



5

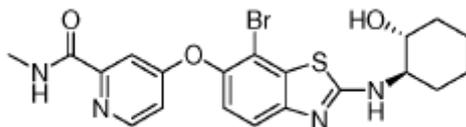
Preparación de (1R,2R)-2-(6-(6-fluoroquinolin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol.

A la mezcla de reacción de 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (15.1 mg, 0.057 mmol) en 0.4 ml de NMP se añadió carbonato de cesio (47 mg, 0.143 mmol) y se agitó a temperatura ambiente por 1-3 minutos. A esta mezcla se añadió 4-cloro-6-fluoroquinolina (21 mg, 0.114 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 105-110 °C por 18 horas o hasta que estuvo terminada, por LC. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar (1R,2R)-2-(6-(6-fluoroquinolin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol como sal de TFA (9.2 mg). ES/MS m/z 410.1(MH+).

10

Ejemplo 195

4-(7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



15

Paso 1. Síntesis de 7-bromo-2-cloro-6-metoxibenzo[d]tiazol

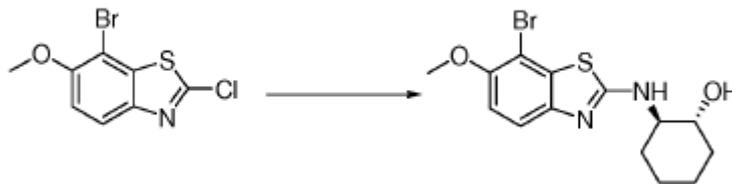


20

A la solución de 2-cloro-6-metoxi-benzotiazol (200mg, 1.0mmol, 1.0eq) en 5mL de NMP se añadió N-bromosuccinimida (213mg, 1.20mmol, 1.2eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 75°C por >24 horas con subsiguiente adición de NBS en pequeñas porciones para el progreso de la reacción, después de ello se diluyó la mezcla con agua (aproximadamente 100mL) y se realizó extracción a la capa acuosa con etil acetato (aproximadamente 150mLX3). Se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas, se filtraron y condensaron bajo presión reducida. La purificación en ISCO usando gradiente de 0%-50% de etil acetato-hexano dio 336 mg de producto como polvo blancuzco velloso en 60% de rendimiento, cuya estructura fue confirmada por H+RMN. LC/MS (m/z) [279.9] (MH+)

25

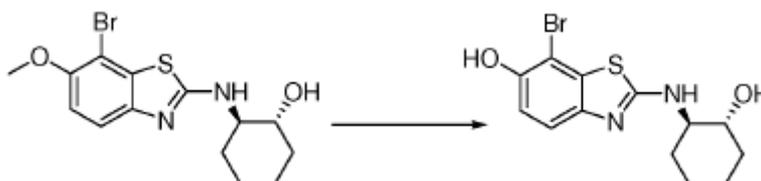
Paso 2. Síntesis de (1R,2R)-2-(7-bromo-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol



5

A la solución de 7-bromo-2-cloro-6-metoxibenzo[d]tiazol (150mg, 0.539mmol, 1.0eq) en 1mL de NMP se añadió clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclohexanol (0.123mg, 0.809mmol, 1.5eq) y DIPEA (263mL, 1.503 mmol, 2.8 eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 125°C por 12 horas, después de ello se diluyó la mezcla con solución saturada de bicarbonato de sodio (aproximadamente 100mL) y se realizó extracción en la capa acuosa (aproximadamente 200mLX3). Se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas con etil acetato, se filtraron y condensaron bajo presión reducida para dar producto crudo como aceite marrón, que era suficientemente puro y fue llevado al siguiente paso sin purificación adicional. LC/MS (m/z) [359.0] (MH+)

Paso 3. Síntesis de 7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-benzo[d]tiazol-6-ol

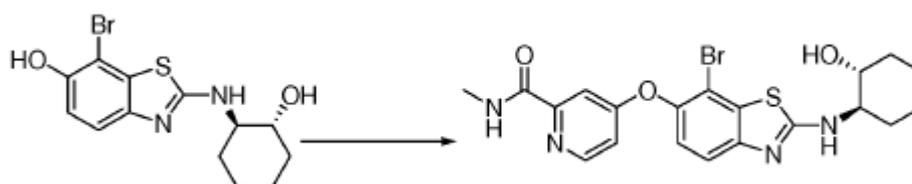


10

15

A la solución de (1R,2R)-2-(7-bromo-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-ilamino) ciclohexanol (191mg, 0.537mmol, 1.0eq) en 10mL de DCM se añadió solución 1 M de tribromuro de boro (aproximadamente 3.0mL, 2.68 mmol, 5.0eq) a temperatura ambiente. Se sometió la mezcla de reacción a reflujo por 12 horas, después de ello se diluyó la mezcla con bicarbonato de sodio saturado (aproximadamente 100mL) hasta pH=7 y se sometió a extracción la capa acuosa con etil acetato (aproximadamente 150mLX3). Se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas, se filtraron y condensaron bajo presión reducida para dar producto crudo suficientemente puro que fue llevado al siguiente paso sin purificación adicional LC/MS (m/z) [345.0] (MH+).

Paso 4. Síntesis de 4-(7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



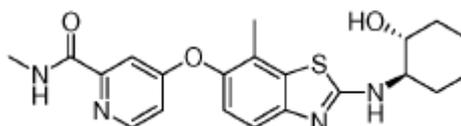
20

A la solución de 7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (50mg, 0.145mmol, 1.0eq) en 1mL de NMP se añadió 4-cloro-N-metilpicolinamida (29mg, 0.174mmol), 1.2eq) y carbonato de cesio (165mg, 0.507mmol, 3.5eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 80°C por aproximadamente 12 horas, después de ello se purificó la mezcla en HPLC de fase inversa. LC/MS (m/z) [479.0] (MH+)

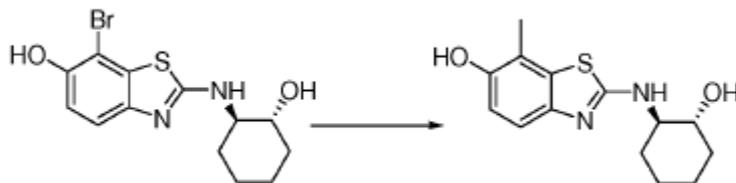
Ejemplo 196

25

4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-7-metilbenzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida

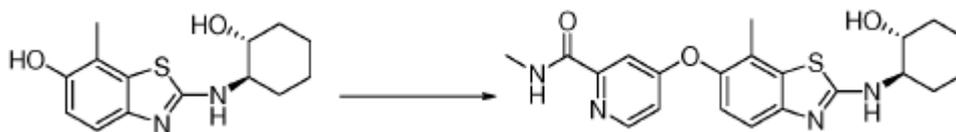


Paso 1. Síntesis de 2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-7-metilbenzo[d]tiazol-6-ol



5 A la solución de 7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (117mg, 0.34 mmol, 1.0eq) en 1mL DMF en un vial para microondas se añadió trimetilboraxina (128mg, 1.02 mmol, 3.0eq), Pd(Cl₂)dPPf(27mg, 0.034mmol, 0.1eq) y 1mL de solución 2M de Na₂CO₃ a temperatura ambiente. Después de ello, se calentó la mezcla de reacción en el equipo de microondas a 120°C por 15 minutos. Se detuvo la reacción con solución saturada de NaHCO₃ (25ml) y se realizó extracción a la fase acuosa con etil acetato (50mLX3), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y condensaron bajo presión reducida. La purificación sobre ISCO usando un gradiente de 0%-18% de metanol-DCM dio 17 mg de producto como polvo marrón en 17% de rendimiento. LC/MS (m/z) [279.1] (MH⁺)

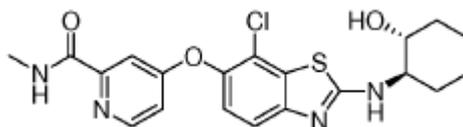
10 Paso 2. Síntesis de 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-7-metilbenzo-[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



Preparada siguiendo el procedimiento del ejemplo 543 paso 4. LC/MS (m/z) [413.1] (MH⁺)

Ejemplo 197

4-(7-cloro-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



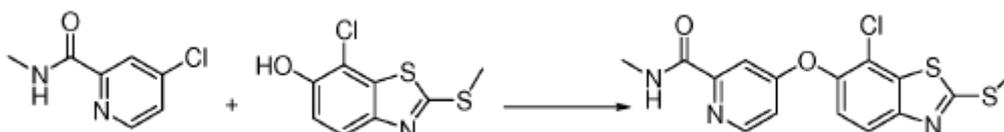
15

Paso 1. Síntesis de 7-cloro-2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-ol



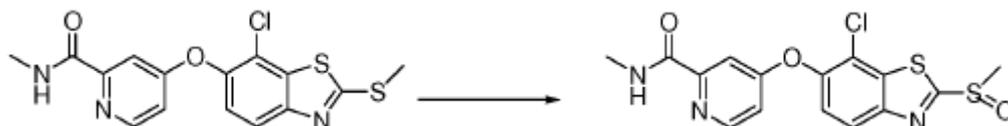
20 A la solución de 2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-ol (500mg, 2.53mmol, 1.0eq) en 10mL de NMP se añadió N-clorosuccinimida (507mg, 3.80mmol, 1.5eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 1 hora, después de ello se diluyó la mezcla con solución saturada de bicarbonato de sodio (aproximadamente 100mL) y se realizó extracción la capa acuosa con DCM (aproximadamente 150mLX3). Se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas, se filtraron y condensaron bajo presión reducida. La purificación en ISCO usando gradiente de 0%-100% etil acetato-hexano dio 283.39 mg de producto en 48% de rendimiento, cuya estructura fue confirmada por H+NMR. LC/MS (m/z) [232.0] (MH⁺)

25 Paso 2. Síntesis de 4-(7-cloro-2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N metil picolinamida



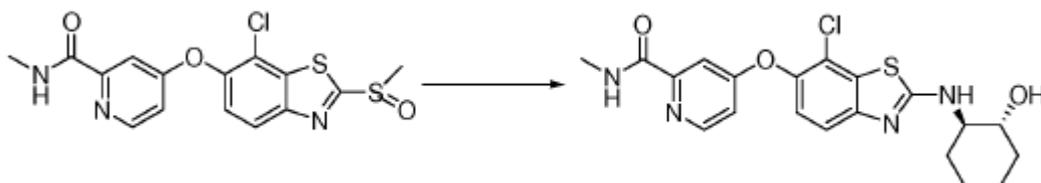
A la solución de 7-cloro-2-(metiltio)benzo[d]tiazol-6-ol (80mg, 0.346mmol, 1.0eq) en 1mL de NMP se añadió 4-cloro-N-metilpicolinamida (88mg, 0.519mmol, 1.5eq) y carbonato de cesio (281mg, 0.865mmol, 2.5eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 85°C por >48 horas hasta que estuvo completa en aproximadamente 75%-80%, después de ello se diluyó la mezcla con agua (aproximadamente 50mL) y se realizó extracción a la capa acuosa con etil acetato (aproximadamente 50mLX3). Se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas, se filtraron y condensaron bajo presión reducida para dar producto crudo que fue purificado en ISCO usando gradiente de 0%-100% de mezcla de etil acetato-hexano para dar 64 mg de producto en 50% de rendimiento. LC/MS (m/z) [366.0] (MH+)

Paso 3. Síntesis de 4-(7-cloro-2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



A la solución de 4-(7-cloro-2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida (64mg, 0.175mmol, 1.0eq) en 5 mL de DCM se añadió MCPBA (33mg, 0.192 mmol, 1.1 eq) a 0°C y se agitó la reacción por 30-45min. Después de ello, se detuvo la reacción con agua (10mL) y se sometió a extracción la fase acuosa con etil acetato (25mLX5), se secaron sobre sulfato de sodio las capas orgánicas combinadas, se filtraron y condensaron bajo presión reducida para dar producto crudo que era suficientemente puro y fue llevado al siguiente paso sin purificación adicional. LC/MS (m/z) [382.0] (MH+)

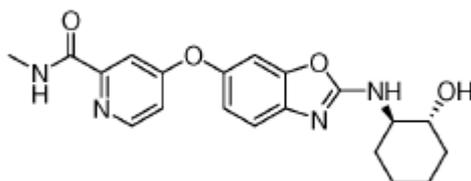
Paso 4. Síntesis de 4-(7-cloro-2-((1R,2R)-2-hidrox ciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



A la solución de 4-(7-cloro-2-(metilsulfinil)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida (10mg, 0.026mmol), 1.0eq) en NMP se añadió clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclohexanol (6mg, 0.039mmol, 1.5eq) y DIPEA (13µL, 0.078mmol, 3.0eq) y se calentó la mezcla de reacción a 160°C en microondas por 15 min. Después de ello se purificó el producto vía HPLC en fase inversa. LC/MS (m/z) [433.1] (MH+)

Ejemplo 201

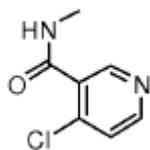
4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida



A la solución de N-metil-4-(2-(metilsulfinil)benzo[d]oxazol-6-iloxi)picolinamida (25mg, 0.075 mmol, 1.0eq, descrita en el paso 3 ejemplo 2 de referencia) en 1 mL de NMP se añadió clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclohexanol (17mg, 0.112mmol, 1.5eq) y DIPEA (40µL, 0.225mmol, 3.0eq) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 48 horas. Después de ello el producto fue purificado mediante HPLC en fase inversa. LC/MS (m/z) [383.1] (MH+)

Productos intermedios

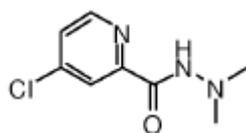
Síntesis de 4-cloro-N-metilpiridin-3-carboxamida



5 Paso 1. A una suspensión de ácido 4-cloronicotínico (1.57 g, 10.0 mmol, 1.0 eq) en 25 mL de tolueno se añadió cloruro de tionilo (1.8 mL, 25.0 mmol, 2.5 eq) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 100°C por 3 horas. Se concentró la mezcla bajo presión reducida, se disolvió en 25 mL de tolueno y se concentró nuevamente para dar sal cruda de clorhidrato de cloruro de 4-cloronicotinoilo, que fue usada en el siguiente paso sin purificación adicional.

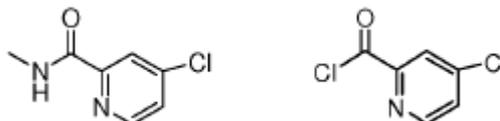
10 Paso 2. A una suspensión de clorhidrato de cloruro de 4-cloronicotinoilo crudo en 25 mL de THF se añadió solución de metilamina (2M en THF, 20 mL, 40 mmol, 4.0 eq) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 1 hora y se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el material crudo en etilacetato (75 mL) y agua/salmuera/solución saturada de bicarbonato de sodio (1/1/1, 75 mL). Se sometió a extracción con EtOAc la capa acuosa separada. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua/salmuera/solución saturada de bicarbonato de sodio (1/1/1, 25 mL) y salmuera (25 mL) y secadas sobre sulfato de sodio. El retiro del solvente bajo presión reducida suministró el compuesto del título, como sólido naranja (400 mg, 24%), el cual fue usado sin purificación adicional. MH+ = 171.0, Tr = 0.55min.

15 Síntesis de 4-cloro-N',N'-dimetilpiridin-2-carboxhidrazida



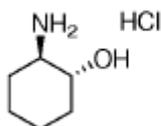
20 A una suspensión de clorhidrato de cloruro de 4-cloropicolinoilo (352 mg, 2.0 mmol, 1.0 eq) en 10 mL de THF se añadieron N,N-dimetilhidrazina (120 mg, 2.0 mmol, 1.0 eq) y N,N-diisopropiletilamina (383 mL, 2.2 mmol, 1.1 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada por 15 min y diluida con agua (25 mL) y EtOAc (50 mL). Las capas orgánicas separadas fueron lavadas con salmuera (25 mL), solución saturada de bicarbonato de sodio (25 mL) y se secaron sobre sulfato de sodio. La concentración bajo presión reducida dio el compuesto del título como sólido incoloro (223 mg, 56%), el cual fue usado sin purificación adicional. MH+ = 200, Tr = 1.42min.

Síntesis de 4-cloro-N-metilpicolinamida y cloruro de 4-cloropicolinoilo



25 Preparado siguiendo el método descrito en "A Scaleable Synthesis of BAY 43-9006: A Potent Raf Kinase Inhibitor for the treatment of cancer". Donald Bankston, Jacques Dumas, Reina Natero, Bernd Riedl, Mary-Katherine Monahan, Robert Sibley.; Bayer Research Center. Pharmaceutical Division. Organic Process Research and Development 2002 (6) 777-781.

Síntesis de clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclohexanol



30 A una solución de amina (1R,2R)-(-)-2-benciloxiciclohexilamina (20 g, 97.4 mmol) en MeOH seco (390 mL) enfiada en baño de hielo se añadió solución de HCl 4.0 M en dioxano (49 mL, 195 mmol) lentamente mediante una jeringa. Se retiró el baño de hielo y a la solución resultante se aplicó N₂ por 10 min. Se añadió a la solución Pd/C 10 % (3 g, 28 mmol) y se purgó la reacción con H₂ y se mantuvo bajo una atmósfera de H₂. Después de 4 h, se añadió² una cantidad adicional de 10 mL de solución de HCl 4.0 M en dioxano y se mantuvo la reacción bajo una atmósfera de H₂ durante la noche. Una vez completada (seguido por LCMS), se filtró la reacción a través de una paleta de Celite

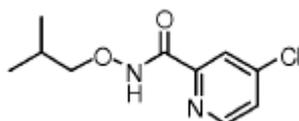
35

delgada, empacada apretadamente y se lavaron sucesivamente los sólidos colectados con MeOH y EtOAc. Los filtrados orgánicos combinados, evaporados y secados bajo vacío dieron clorhidrato de (1R,2R)-2-aminociclohexanol como un sólido de color pardo, (13.8 g, 91 mmol, 93%). LCMS m/z 116.0 (MH⁺), Tr = 0.37 min.

Se preparó clorhidrato de (1S,2S)-2-aminociclohexanol de la misma manera.

5 Ejemplo 202 de referencia

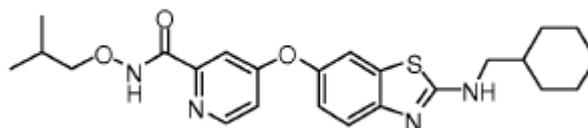
4-cloro-N-isobutoxicolinamida



10 A una suspensión de clorhidrato de cloruro de 4-cloropicolinilo (1.0 g, 5.68 mmol, 1.0 eq) en 25 ml de THF se agregaron clorhidrato de O-isobutilhidroxilamina (785 mg, 6.25 mmol, 1.1 eq) y N,N-diisopropiletilamina (2.97 ml, 17.0 mmol, 3.0 eq) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada por 30 min y diluida con agua (25 mL) y EtOAc (50 mL). La capa orgánica separada fue lavada con salmuera (25mL), solución saturada de bicarbonato de sodio (2x 25 mL) y secada sobre sulfato de sodio. La concentración bajo presión reducida dio el compuesto del líquido como sólido incoloro (870 mg, 67%), el cual fue usado sin purificación adicional. ES/MS m/z 229.0 (MH⁺), Tr = 2.61 min.

15 Ejemplo 203 de referencia

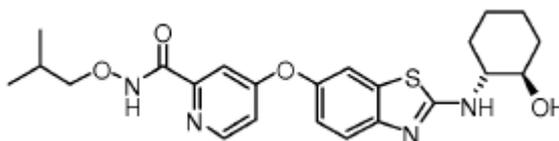
4-(2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-isobutoxicolinamida



20 A la mezcla de reacción 2-(ciclohexilmetilamino)benzo[d]tiazol-6-ol (30 mg, 0.114 mmol; Ejemplo 180 de referencia - Paso 2) y carbonato de cesio (326 mg, 0.228 mmol) en 1.2 ml de DMF se añadió 4-cloro-N-isobutoxicolinamida (40 mg, 0.171 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 10 min y luego se aplicaron microondas a 130 °C por 3x20min. La mezcla cruda de reacción fue filtrada, purificada en HPLC preparativa y liofilizada para dar el compuesto del título como sucursal de TFA, como un sólido blanco (15 mg, 23%). ES/MS m/z 455.1 (MH⁺), Tr = 2.90 min.

Ejemplo 204

25 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-isobutoxicolinamida

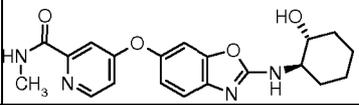
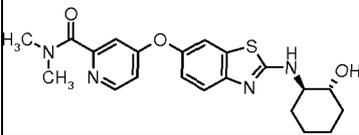
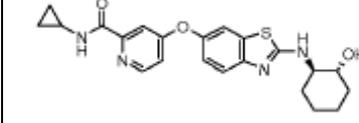
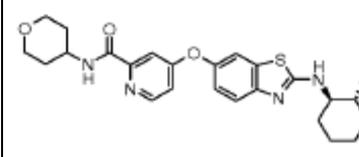
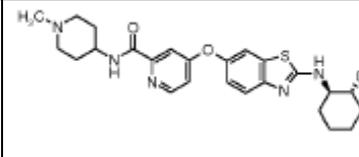
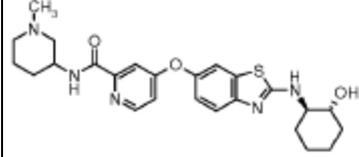
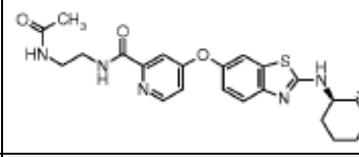
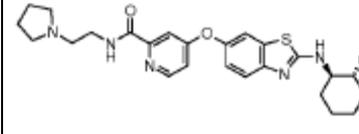
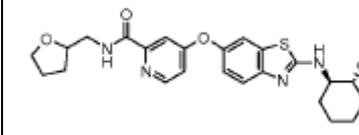
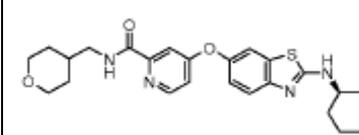


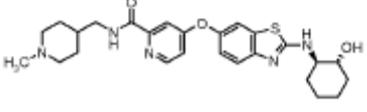
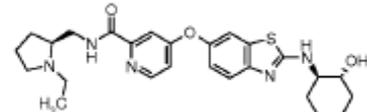
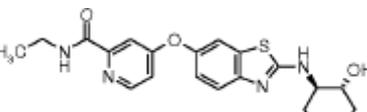
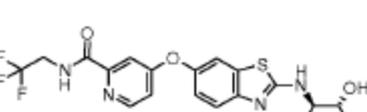
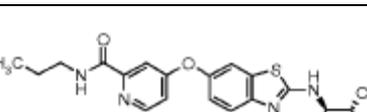
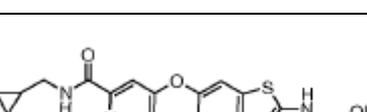
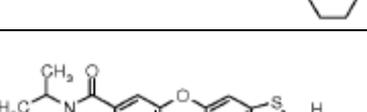
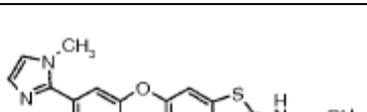
Preparada como en el ejemplo precedente. ES/MS m/z 457.0 (MH⁺), Tr = 2.35 min.

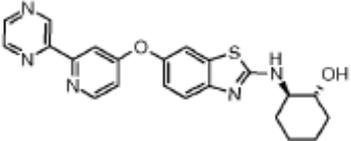
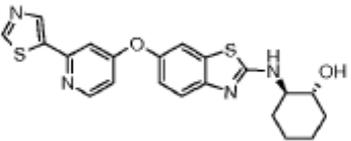
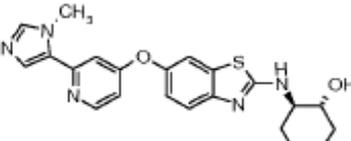
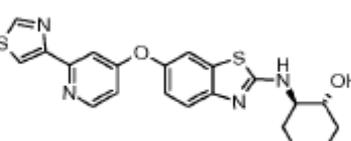
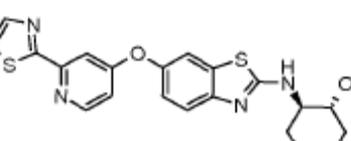
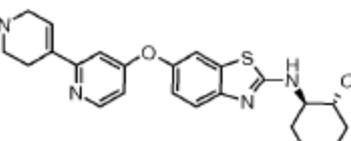
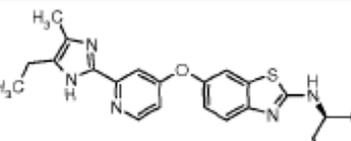
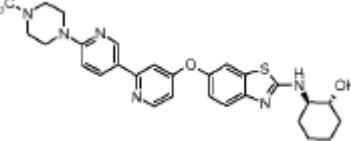
iloxi)benzo[d]tiazol-2-amina como sal de TFA (3.0mg). ES/MS m/z 434.2 (MH⁺).

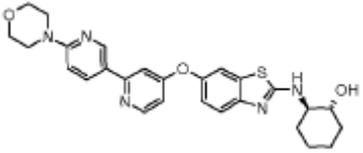
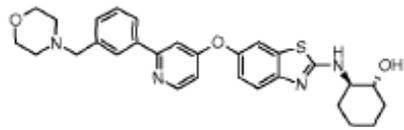
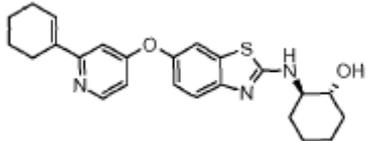
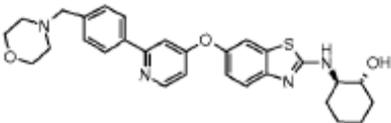
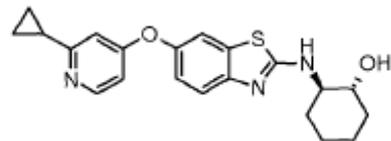
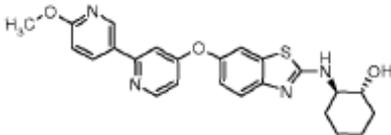
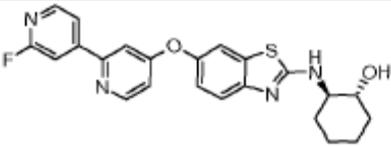
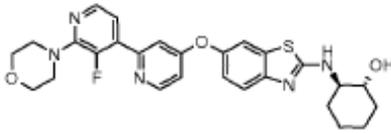
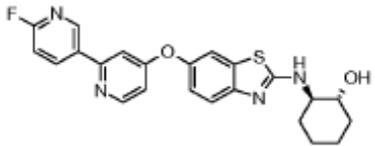
30 Los compuestos en la tabla 3 fueron hechos de acuerdo con los ejemplos de arriba, y en particular de acuerdo con el ejemplo notado en la columna Prep. Ej. (Preparación de Ejemplo).

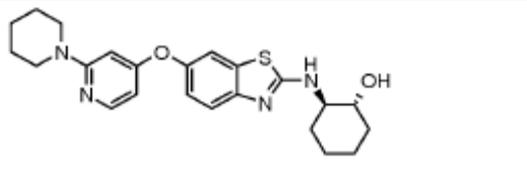
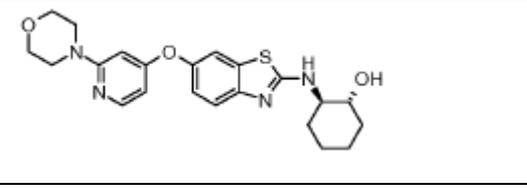
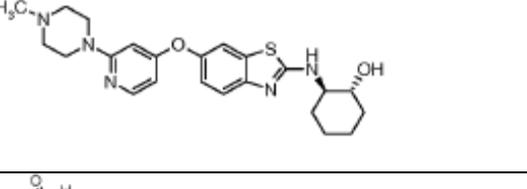
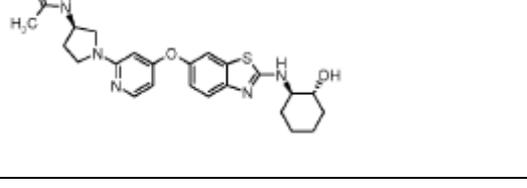
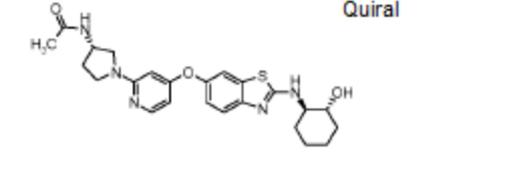
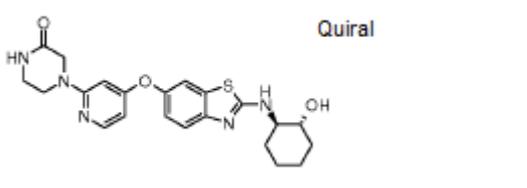
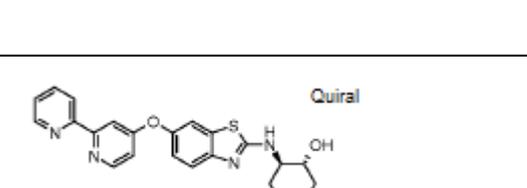
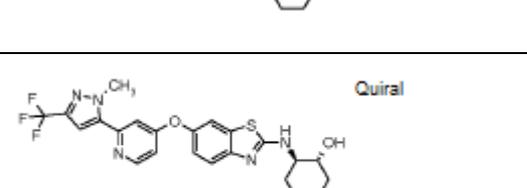
Tabla 3

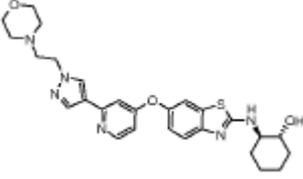
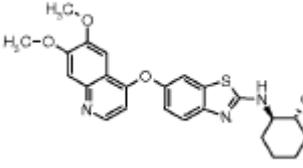
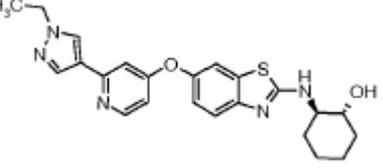
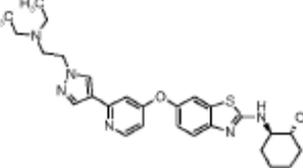
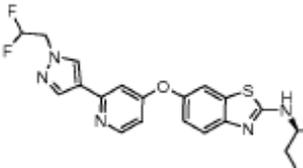
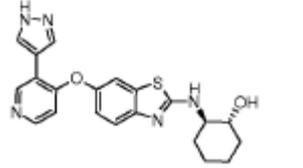
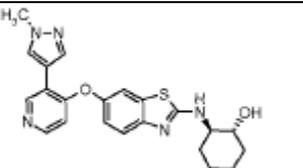
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
|-------|----------|---|---|--------------------------------|
| 7 | 201 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]oxazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 383, 1.96 |
| 10 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N,N-dimetilpicolinamida | 413.1, 1.87 |
| 11 | 171 |  | N-ciclopropil-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)picolinamida | 425.2, 2.13 |
| 12 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)picolinamida | 469.2, 2.09 |
| 13 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-(1-metilpiperidin-4-il)picolinamida | 482.2, 1.85 |
| 14 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-(1-metilpiperidin-3-il)picolinamida | 482.2, 1.87 |
| 15 | 171 |  | N-(2-acetamidoetil)-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)picolinamida | 470.2, 1.86 |
| 16 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-(2-(pirrolidin-1-il)etil)picolinamida | 482.2, 1.84 |
| 17 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-((tetrahidrofuran-2-il)metil)picolinamida | 469.2, 2.16 |
| 18 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]thiazol-6-iloxi)-N-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)picolinamida | 483.2, 2.12 |

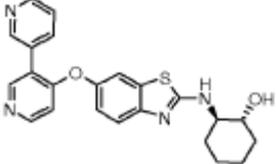
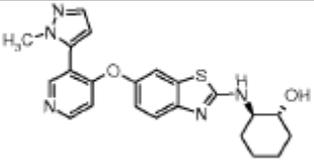
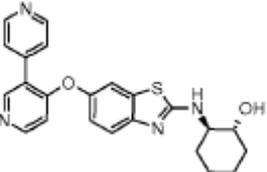
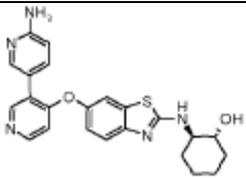
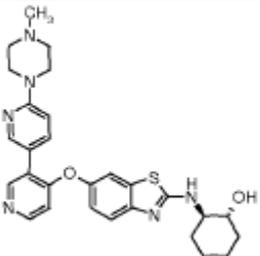
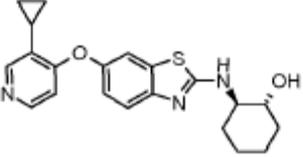
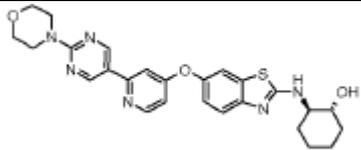
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|---|-------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H)+, Tr (min.) |
| 19 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-((1-metilpiperidin-4-il)metil)picolinamida | 496.2, 1.84 |
| 20 | 171 |  | N-(((S)-1-etilpirrolidin-2-il)metil)-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida | 496.2, 1.88 |
| 47 | 171 |  | N-etil-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida | 413.2, 2.09 |
| 48 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-(2,2,2-trifluoroetil)picolinamida | 467.1, 2.37 |
| 49 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-propilpicolinamida | 427.1, 2.25 |
| 50 | 171 |  | N-(ciclopropilmetil)-4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinamida | 439.2, 2.32 |
| 51 | 171 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-isopropilpicolinamida | 427.2, 2.24 |
| 125 | 162 |  | 4-(2-((1R,4r)-4-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 399.1, 1.83 |
| 155 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.83 |

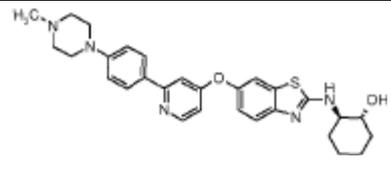
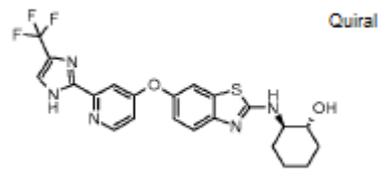
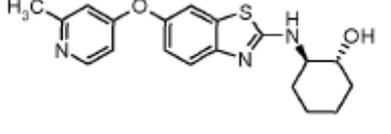
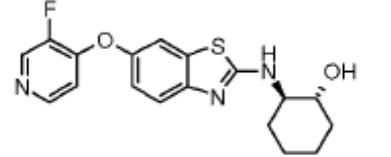
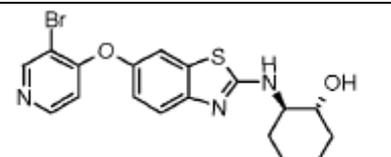
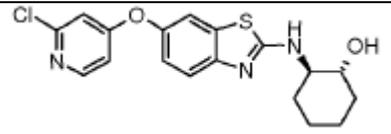
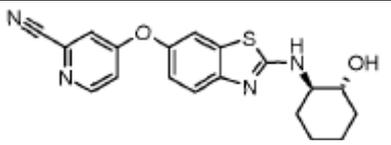
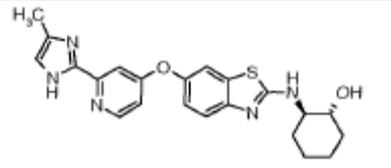
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 156 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(pirazin-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 420.1, 1.91 |
| 157 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(tiazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 425.0, 2.05 |
| 158 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-imidazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.84 |
| 159 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(tiazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 425.0, 1.85 |
| 160 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(tiazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 425.0, 2.28 |
| 161 | 188 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1,2,3,6-tetrahidropiridin-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 423.1, 1.38 |
| 162 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(5-etil-4-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 450.1, 1.82 |
| 164 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-(4-metilpiperazin-1-il)-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 517.2, 1.75 |

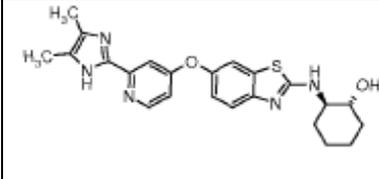
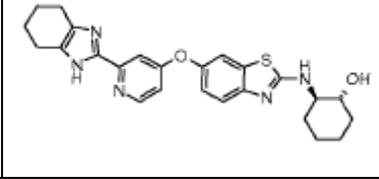
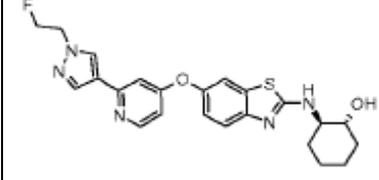
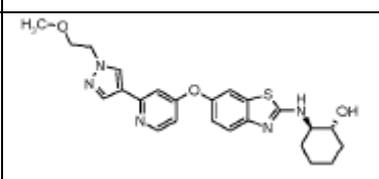
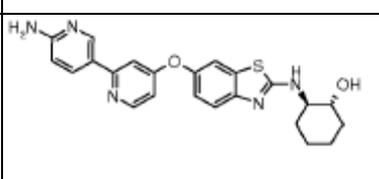
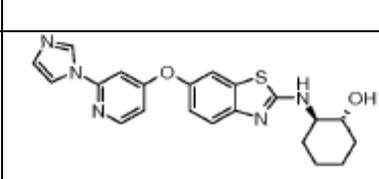
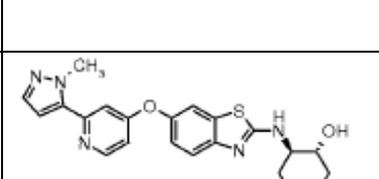
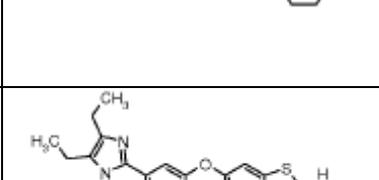
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|---|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 165 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-morfolino-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 504.1, 1.93 |
| 166 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(3-(morfolinometil)fenil)piridina-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 517.1, 1.78 |
| 167 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(2-ciclohexenil)piridina-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 2.07 |
| 168 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-(morfolinometil)fenil)piridina-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 517.2, 1.76 |
| 169 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(2-ciclopropil)piridina-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 382.1, 1.84 |
| 170 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-metoxi-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 449.1, 1.98 |
| 171 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2'-fluoro-2,4'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 437.1, 2.22 |
| 172 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(3'-fluoro-2'-morfolino-2,4'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 522.2, 2.17 |
| 173 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-fluoro-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 437.1, 2.04 |

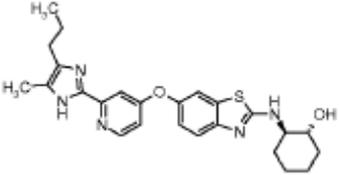
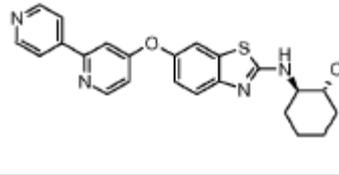
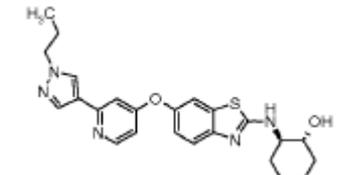
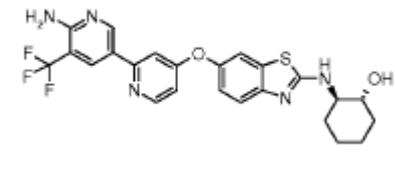
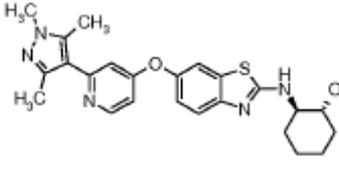
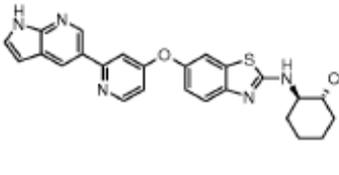
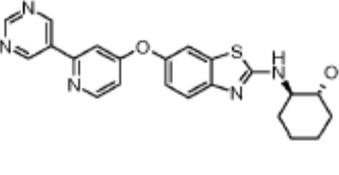
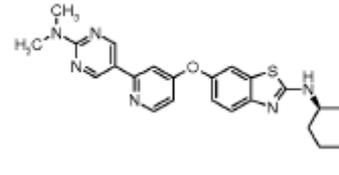
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|--|---|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 174 | 183 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(piperidin-1-yl)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 425.1, 1.98 |
| 175 | 183 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(morfolinopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 427.1, 1.80 |
| 176 | 183 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 440.1, 1.66 |
| 177 | 183 |  | N-((R)-1-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)pirrolidin-3-il)acetamida | 468.1, 1.78 |
| 178 | 183 |  Quiral | N-((S)-1-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)pirrolidin-3-il)acetamida | 468.1, 1.77 |
| 179 | 183 |  Quiral | 4-(4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)piridin-2-il)piperazin-2-one | 440.1, 1.70 |
| 180 | 175 |  Quiral | (1R,2R)-2-(6-(2,2'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 419.0, 1.87 |
| 181 | 175 |  Quiral | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 490.1, 2.60 |

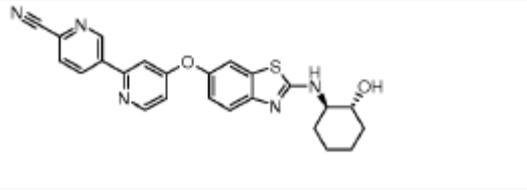
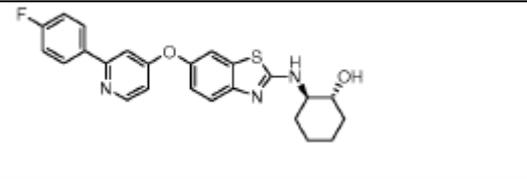
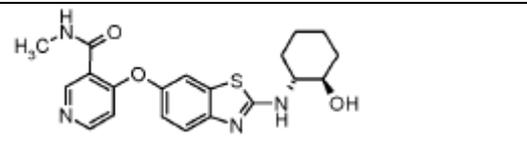
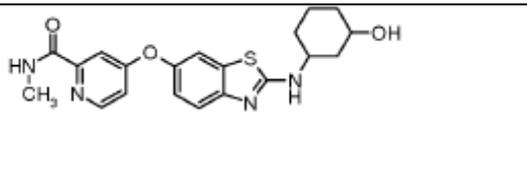
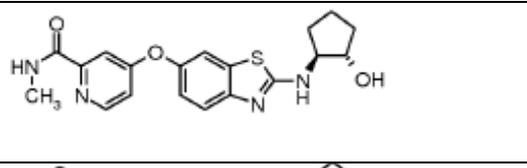
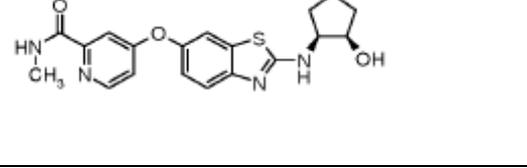
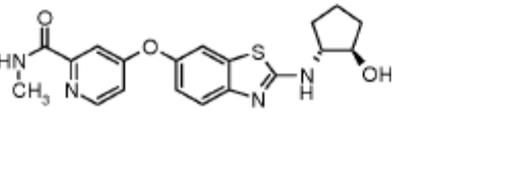
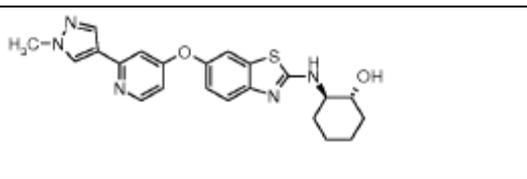
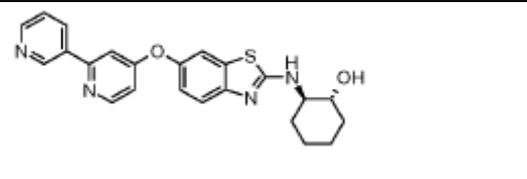
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 182 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2-morfolinoetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 521.1, 1.71 |
| 184 | 192 |  | (1R,2R)-2-(6-(6,7-dimetoxiquinolin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 452.1, 2.00 |
| 185 | 176 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-etil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 436.0, 1.89 |
| 186 | 176 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2-(dietilamino)etil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 507.1, 1.75 |
| 187 | 176 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2,2-difluoroetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 472.0, 1.90 |
| 188 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-(1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 408.1, 1.70 |
| 189 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.79 |

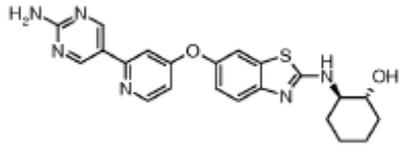
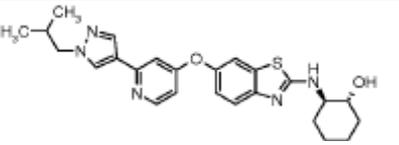
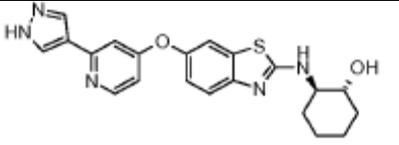
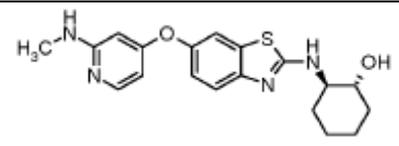
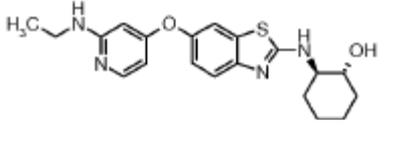
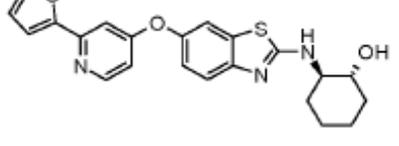
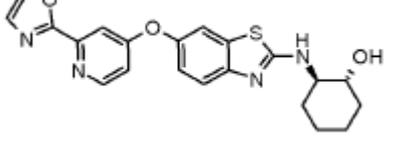
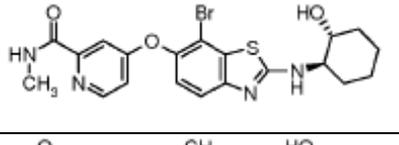
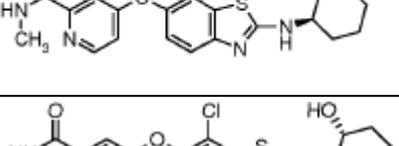
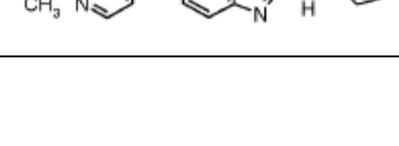
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|---|-------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H)+, Tr (min.) |
| 190 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 419.1, 1.66 |
| 191 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-(1-metil-1H-pirazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.83 |
| 192 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3,4'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 419.1, 1.61 |
| 193 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-amino-3,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 434.1, 1.60 |
| 194 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-(4-metilpiperazin-1-il)-3,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 517.2, 1.64 |
| 195 | 179 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-ciclopropilpiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 382.1, 1.97 |
| 196 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(2-morfolinopirimidin-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 505.1, 2.03 |

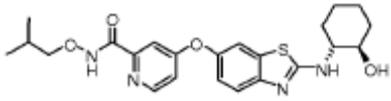
| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|--------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H)+, Tr (min.) |
| 197 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 516.2, 1.85 |
| 200 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 476.1, 2.35 |
| 203 | 192 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(metilpiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 356.1, 1.73 |
| 209 | 192 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-fluoropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 360.1, 1.83 |
| 224 | 178 |  | (1R,2R)-2-(6-(3-bromopiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 420.1/42 2.0, 1.81 |
| 225 | 173 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(cloropiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 376.1, 2.13 |
| 226 | 173 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)picolinonitrile | 367.1, 2.03 |
| 231 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-metil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.88 |

| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|-------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H)+, Tr (min.) |
| 232 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4,5-dimetil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 436.1, 1.93 |
| 258 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4,5,6,7-tetrahidro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 462.2, 2.03 |
| 259 | 176 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2-fluoroetil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 454.2, 1.89 |
| 260 | 176 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 466.2, 1.89 |
| 261 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-amino-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 434.2, 1.78 |
| 262 | 187 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-imidazol-1-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 408.2, 1.85 |
| 265 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.1, 1.93 |
| 266 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4,5-dietil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 464.2, 2.10 |

| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 267 | 177 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(5-metil-4-propil-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 464.2, 2.10 |
| 280 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2,4'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 419.0, 1.68 |
| 281 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-propil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 450.0, 2.02 |
| 282 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(6'-amino-5'-(trifluorometil)-2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 502.0, 2.02 |
| 283 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 450.0, 1.86 |
| 284 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 458.0, 1.91 |
| 285 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(pirimidin-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 420.1, 1.90 |
| 286 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(2-(dimetilamino)pirimidin-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 463.1, 1.96 |

| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|--|-------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H)+, Tr (min.) |
| 287 | 174 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-2,3'-bipiridine-6'-carbonitrile | 444.0, 2.18 |
| 288 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(4-fluorofenil)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 436.0, 2.06 |
| 291 | 195 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilnicotinamida | 399.1, 1.72 |
| 293 | 162 |  | 4-(2-(3-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 399.1, 1.76 |
| 320 | 162 |  | 4-(2-((1S,2S)-2-hidroxiciclopentilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 385.1, 1.74 |
| 322 | 162 |  | 4-(2-((1S,2R)-2-hidroxiciclopentilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 385.1, 1.75 |
| 324 | 162 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclopentilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-metilpicolinamida | 385.1, 1.75 |
| 344 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 422.2, 1.68 |
| 345 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2,3'-bipiridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 419.1, 1.69 |

| (cont.) | | | | |
|---------|----------|---|---|--------------------------------|
| Comp. | Prep Ej. | Estructura | Nombre | (M+H) ⁺ , Tr (min.) |
| 346 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(2-aminopirimidin-5-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 435.2, 1.61 |
| 359 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1-isobutil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 464.4, 1.95 |
| 360 | 174 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(1H-pirazol-4-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 408.1, 1.63 |
| 368 | 170 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(metilamino)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 371.1, 1.79 |
| 369 | 170 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(etilamino)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 385.1, 1.74 |
| 371 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(furan-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 408.1, 1.94 |
| 372 | 175 |  | (1R,2R)-2-(6-(2-(oxazol-2-il)piridin-4-iloxi)benzo[d]tiazol-2-ilamino)ciclohexanol | 409.1, 1.98 |
| 376 | 195 |  | 4-(7-bromo-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-Nmetilpicolinamida | 479, 2.37 |
| 377 | 196 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)-7-metilbenzo[d]tiazol-6-iloxi)-Nmetilpicolinamida | 413, 2.09 |
| 378 | 197 |  | 4-(7-cloro-2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-Nmetilpicolinamida | 433, 2.33 |

| (cont.) | | | | |
|---------|-------|---|--|----------------|
| Comp. | Comp. | Comp. | Comp. | Comp. |
| 381 | 204 |  | 4-(2-((1R,2R)-2-hidroxiciclohexilamino)benzo[d]tiazol-6-iloxi)-N-isobutoxipicolinamida | 457.0, 2.35 |

Se mostró que cada uno de los compuestos de la invención listados en la tabla 2 tiene actividad respecto a la inhibición de CSF-1R con un IC₅₀ menor a aproximadamente 10 μM. Muchos de los compuestos exhibieron actividad con un IC₅₀ menor a aproximadamente 1 μM, o menor a aproximadamente 0.1 μM, o menor a aproximadamente 0.01 μM respecto a la inhibición de CSF-1R. Se halló que los compuestos de la invención en las tablas 3 tienen una actividad inferior a 1 μM. Como tal, cada uno de los compuestos de las tablas 2 y 3 es preferido individualmente y como un miembro de un grupo.

Adicionalmente a la actividad inhibitoria de CSF-1R muchos de los compuestos de las tablas 2 y 3 fueron también discriminados respecto a la inhibición de Raf (de acuerdo con las discriminaciones bioquímicas descritas en el documento US 10/405,945), así como otras quinasas, y mostraron inhibir CSF-1R de manera significativamente mayor (entre aproximadamente 2 y aproximadamente 1,000 veces más) que Raf y otras quinasas discriminadas. De modo más particular, muchos de los compuestos discriminados tenía la actividad mayor a aproximadamente 1 μM respecto a la inhibición de Raf, mientras muchos de los mismos compuestos exhibieron actividades respecto a CSF-1R inferiores a aproximadamente 0.1 μM. Como tal, muchos de los compuestos de las tablas 2 y 3 son inhibidores potentes y selectivos de CSF-1R.

Ejemplos biológicos

Ejemplo biológico 1

Ensayos *In Vitro* de quinasa para receptor del factor 1 de estimulación de colonia (CSF-1R)

La actividad de quinasa de diferentes quinasas de tirosina de proteína puede ser medida suministrando ATP y un péptido adecuado o sustrato que contiene tirosina de proteína, y probando la transferencia del fragmento fosfato al residuo de tirosina. Se compró proteína recombinante de Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA EEUU (#PV3249), correspondiente al dominio citoplasmático del CSF-1R humano. Para cada ensayo, se diluyeron en serie compuestos de prueba, partiendo en 25 μM con diluciones de 3 veces, en DMSO en placas de 384 pozos, luego se mezclaron con un amortiguador de reacción de quinasa apropiado que consiste en Hepes 50 mM, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 10 mM, BSA 0.1%, pH 7.5, ditioneitol 1.0 mM, Tween 80 0.01% más ATP 1 μM. Se añadieron proteína quinasa y un sustrato a 50 nM de péptido biotinilado apropiado, para dar un volumen final de 20 μL, se incubaron las reacciones por 2 horas a temperatura ambiente y se detuvieron mediante la adición de 10 μL de EDTA 45mM, Hepes 50mM pH 7.5. A la reacción detenida se añadieron 30 μL de esferas PT66 Alphascreen (Perkin Elmer, Boston, MA, EEUU). Se incubó la reacción durante la noche y se leyó en el Envision (Perkin Elmer). se midió el producto péptido fosforilado con el sistema AlphaScreen (Perkin Elmer) usando esferas de aceptador cubiertas con anticuerpo anti-fosfotirosina PT66 y esferas de donante cubiertas con estreptavidina que emiten una señal fluorescente a la longitud de onda de emisión de 520-620 nM, si está en proximidad cercana. Se calculó la concentración de cada compuesto para inhibición de 50% (IC₅₀) mediante regresión no lineal usando software de análisis de datos XL Fit.

Se ensayó la quinasa CSF-1R en Hepes 50 mM pH 7.0, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 10 mM, DTT 1 mM, BSA 1 mg/ml, ATP 1.0 μM, y sustrato de péptido biotina-GGGGRPRAATF-NH₂ (SEQ ID NO:2) 0.05 mM. Se añadió quinasa CSF-1R a la concentración final de 4 nM.

Ejemplo biológico 2

Inhibición *In Vitro* de fosforilación de tirosina de receptor de CSF-1R

Para probar la inhibición de fosforilación de tirosina de receptor de CSF-1R, se incubaron células HEK293H compradas a Invitrogen Cat. # 11631017 transfectadas con el receptor CSF-1R humano de longitud total clonado en casa dentro de vector de transfección episomal de mamífero, por 1 h con diluciones en serie de compuestos partiendo en 10 μM con diluciones por 3 veces y luego se estimularon por 8 min con MCSF 50 ng/ml. Después de retirar el sobrenadante, se sometieron las células a lisis sobre hielo con amortiguador de lisis (NaCl 150 mM, Tris 20 mM, pH 7.5, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 1% y NaF, inhibidores de proteasa y fosfatasa) y luego se

agitaron por 15-20 min a 4°C. Se transfirió el producto de la lisis a placas de 96 pozos cubiertas con anticuerpo CSF-1R total, que habían sido ya bloqueadas con Blocker A 3% de Mesoscale discovery (MSD), por 2 horas y se lavó después de ello. Se incubaron durante la noche a 4°C los productos de lisis y luego se lavaron las placas 4x con amortiguador de lavado MSD Tris. Se diluyó el anticuerpo SULFO-TAG anti-pTyr de MSD a 20nM final en solución al 1% de Blocker A (MSD) y se añadió a las placas lavadas y se incubó por 1.5-2 h antes de la adición de amortiguador de lectura (MSD). Se leyeron las placas en el Sector 6000 instrument (MSD). Los datos brutos fueron importados en Abase y se calcularon los EC₅₀s con software de análisis de datos XL-fit.

Ejemplo biológico 3

Inhibidores de CSF-1R en modelo MNFS-60 Pk/Pd

Se implantaron 5 millones de células MNFS-60 en solución de HBSS/matrigel en cantidad suficiente en el lado derecho. Aproximadamente 3 semanas después de la inyección de células de tumor, se midieron los tumores y se repartieron aleatoriamente los ratones seleccionados (n=3 excepto para el grupo del vehículo, donde n=6) en grupos basados en su tamaño de tumor.

Se probaron compuestos que inhibieron la proliferación mediada por M-CSF en células MNFS-60 y la fosforilación de CSF-1R con EC₅₀s <100 nM, en el modelo de tumor singeneico MNFS-60 (5 X 10⁶ donde fueron implantados por vía subcutánea en matrigel y cultivados por 3-4 semanas hasta que alcanzaron aproximadamente 150 mm²). Se administró una dosificación individual de 100 mg/kg de compuestos representativos divulgados aquí, a animales que tenían tumor MNFS-60; se tomaron muestras de plasma y tumor en diferentes instantes de tiempo, después de la dosificación inicial, a 1h hasta 24h.

Se mostró que varios de los compuestos divulgados aquí inhiben la fosforilación Tir723 de CSF-1R en productos de lisis de tumor a ≥ 50%, comparado con el control de vehículo, 4 horas después de la dosificación como se determina mediante la mancha occidental.

Adicionalmente, se probaron varios de los compuestos divulgados aquí en un modelo de ratón con artritis severa de rápido ataque (Terato, K. et al., Journal of Immunology 148:2103-2108; 1992) y el tratamiento comenzó el día tres después de la inyección del coctel de anticuerpo anticógeno seguido por estímulo LPS. A lo largo de los 12 días de tratamiento con inhibidores de CSF-1R, se registró la severidad de extensión de hinchamiento en las patas y resorción de huesos. No se observó atenuación significativa del hinchamiento en el grupo tratado comparado con el grupo de control; sin embargo, se observó una tendencia hacia la mejora en la severidad de resorción de hueso. A la fecha no hay reportes de que los inhibidores de CSF-1R sean efectivos en este modelo de artritis. La única reducción exitosa en el progreso de la enfermedad fue reportada para la inhibición por señalización de CSF-1R con un anticuerpo anti-MCSF en un modelo menos severo de ratón con artritis de ataque más lento (Campbell et al J. Leukoc. Biol. 68: 144-150; 2000).

Ejemplo biológico 4

Inhibición de señalización de quinasa Raf en un ensayo bioquímico *in Vitro*

Se determinó el efecto inhibitorio de compuestos sobre Raf, usando el siguiente ensayo biotinilado. Se midió la actividad de quinasa Raf suministrando ATP, un sustrato MEK inactivo de quinasa recombinante y probando la transferencia del fragmento de fosfato al residuo MEK. El MEK de longitud total recombinante con una mutación de sitio de unión de ATP K97R que inactiva (haciendo inactiva la quinasa) fue expresado en E. coli y etiquetado con biotina después de la purificación. El cADN de MEK fue subclonado con una baliza (His)₆ terminal en N y expresado en E. coli y el sustrato MEK recombinante fue purificado a partir de lisado de E. coli, mediante cromatografía de afinidad con níquel, seguida por intercambio de anión. La preparación de sustrato de MEK final fue biotinilada (Pierce EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin) y concentrado a 11.25 μM. Se obtuvo Raf recombinante (incluyendo isoformas c-Raf y B-Raf mutante) mediante purificación de células sf9 de insecto infectadas con los correspondientes vectores de expresión recombinante de Raf humano. Las isoformas de Raf recombinante fueron purificadas a través de una interacción de anticuerpo Glu o mediante cromatografía de ion metálico

Para cada ensayo, el compuesto fue diluido en serie, partiendo a 25 μM con diluciones de 3 veces, en DMSO y luego mezclado con diferentes isoformas de Raf (0.50 nM cada una). Se añadió el sustrato de biotina-MEK inactivo a la quinasa (50 nM) en amortiguador de reacción más ATP (1 μM). El amortiguador de reacción contenía Tris-HCl₂ 30 mM, pH 7.5, MgCl₂ 10 mM, DTT 2 mM, EDTA 4mM, beta-glicerofosfato 25 mM, MnCl₂ 5 mM, y BSA/PBS 0.01%. A continuación se incubaron las reacciones por aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente y se detuvieron por la adición de EDTA 0.5 M. La mezcla de reacción detenida fue transferida a una placa (Pierce) recubierta con neutravidina e incubada por 1 hora. Se midió el producto fosforilado con el sistema DELFIA de fluorescencia resuelto en el tiempo (Wallac), usando un anti-p-MEK de conejo (señalización de célula) como el anticuerpo primario y anti-conejo etiquetado con europio, como el anticuerpo secundario. La fluorescencia resuelta en el

tiempo puede ser leída sobre un fluorómetro Wallac 1232 DELFIA. Se calculó la concentración del compuesto para inhibición del 50% (IC₅₀) mediante regresión no lineal usando el software para análisis de datos XL Fit.

Ejemplo biológico 5

Inhibición de señalización de quinasa cKIT y PDGFRb en un ensayo bioquímico *In Vitro*

- 5 Se determinaron los valores IC₅₀ para la inhibición de RTKs en el formato Alphascreen midiendo la inhibición del compuesto a la transferencia de fosfato a un sustrato por la enzima respectiva. Brevemente, el respectivo dominio RTK comprado como proteína humana recombinante (cKIT Upstate #14-559, PDGFRb Invitrogen #P3082) fue incubado con dentro de 3 tres veces la Km de la enzima.

- 10 Se ensayó el dominio de quinasa de cKIT en Hepes 50mM, pH=7.5, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 10 mM, DTT 1mM, BSA 0.1% con sustrato de péptido biotinilado 0.06 uM (GGLFDDPSYVNVQNL-NH₂) y ATP 15 uM (ATP KM aparente = 15 uM). Se ensayó el dominio de quinasa de PDGFRβ en Hepes 50mM, pH=7.5, MgCl₂ 20mM, DTT 1mM, BSA 0.1 % con sustrato de péptido biotinilado 0.1 uM (GGLFDDPSYVNVQNL-NH₂) y 10 ATP uM (ATP KM aparente = 25 uM). Se incubaron las reacciones a temperatura ambiente por 3 a 4 hr y se detuvieron con amortiguador (EDTA 20 mM, Tween-20 0.01 % para PDGFRb y cKIT). Se añadieron esferas Alphascreen PY20 a las reacciones detenidas de cKIT y esferas PY20 Ab / Protein A Alphascreen a las reacciones detenidas de PDGFRβ. Se incubaron ambas reacciones durante la noche y se leyeron en el lector Alphascreen. Se calculó la concentración de compuesto para inhibición de 50% (IC₅₀) empleando regresión no lineal usando el software de análisis de datos XL-Fit. Como compuesto de control se corrió estaurosporina en cada ensayo y se requiere un Z'²>0.5 para validar resultados.

Ejemplo biológico 6

- 20 Ensayo de viabilidad celular en células MNFS60 dependientes de MCSF

- 25 Se ensayó la viabilidad celular mediante Cell Titer Glo, Promega. Se inocularon MNFS60 (células AML de murina) en placas de 96 pozos tratadas con TC a una densidad de 5,000 células por pozo en RPMI-1640, FBS 10%, y 1% de penicilina estreptomycin, antes de la adición del compuesto. Los compuestos de prueba fueron diluidos en serie (3 veces) en DMSO a 500x de la concentración final. Para cada concentración de compuesto de prueba, se diluyeron alícuotas de 2 µl (500x) de compuesto o 100% de DMSO (control) en 500µl de medio de cultivo que contenía 2x de concentración final de factor de crecimiento MCSF para concentración 2 x y luego se diluyó 1x sobre las células. La concentración final de MCSF es 10 ng/ml. Se incubaron las células por 72hrs a 37°C, 5% de CO₂. Después de la incubación se añaden 100 µl de Cell Titer Glo a cada pozo, para determinar las células viables. El ensayo fue ejecutado de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega Corporation, Madison,WI. EEUU).
- 30 Cada condición experimental fue ejecutada por triplicado. Se importaron los datos brutos en Abase y se calcularon los EC₅₀s con software de análisis de datos XL-fit. Las unidades relativas de luz de pozos que contenían células sin MCSF en el medio, y como consecuencia no crecieron, fueron definidas como inhibidas al 100%.

Ejemplo biológico 7

Modelo de osteólisis inducida por tumor

- 35 Se ha mostrado que los modelos de osteólisis inducida por tumor (TIO) resumen la destrucción masiva de hueso vista en pacientes con cáncer con metástasis osteolítica de tumor, y han sido reportados extensamente en la literatura de bisfosfonato y en conjunción con la prueba de novedosos agentes anti-osteolíticos. Los resultados de estos estudios muestran buena correlación con la actividad clínica humana (Kim S-J et al., 2005, Canc. Res., 65(9): 3707; Corey, E et al., 2003, Clin. Canc. Res., 9:295; Alvarez, E. et al., 2003, Clin. Canc. Res., 9: 5705). El procedimiento incluye la inyección de células de tumor directamente en la tibia proximal. Una vez se han establecido las células, proliferan y segregan factores que potencian la actividad de osteoclasto, dando como resultado resorción trabecular y cortical de hueso. Se tratan los animales con agentes contra la resorción a continuación del implante celular de tumor y se mide la destrucción del hueso, por diferentes vías al final del estudio.
- 40
- 45 Las líneas de células de tumor utilizadas en este protocolo son de origen humano y representan líneas de tumor que han sido modificadas previamente, tal que ahora expresan la enzima Luciferasa, con objeto de hacer seguimiento a las células de tumor en el animal, usando el sistema Xenogen. La fuerza de la señal de luz también da una indicación de aproximadamente cuántas células de tumor están localizadas en un sitio particular.

- 50 Se inyectan los ratones por vía subcutánea con 2.5 mg/kg de flunixin meglumina, 30 minutos antes de la inoculación celular, para suministrar analgesia después del procedimiento. Se anestesian entonces los ratones mediante inhalación de isoflurane (puede usarse inyección de quetamina/xilazina, si no está disponible isoflurane). Los animales anestesiados son colocados en la posición supina y a continuación de la aspiración de células de tumor dentro de una microjeringa de 50 o 100 µl ajustada con una aguja de calibre 26- o 27, se insertará la aguja a través

del cortex de la tuberosidad anterior de la tibia derecha con un movimiento rotativo "como el de un taladro" para minimizar la posibilidad de fractura cortical. El paso exitoso de la aguja a través del cortex y dentro de la médula es indicado por pérdida en la resistencia contra el movimiento hacia adelante de la aguja. Una vez el cortex del hueso ha sido atravesado, se inyectarán 10-20 µl de suspensión celular (6×10^5 células MDA-MB-231Luc de carcinoma de mama o 3×10^5 células PC-3MLuc de carcinoma de próstata) dentro de la médula del hueso de la tibia. Los animales serán observados para asegurar una recuperación sin acontecimientos notables (almohadilla o lámpara de calentamiento) hasta que se han recuperado de la anestesia.

El progreso del crecimiento de tumor en el hueso puede ser dividido en cinco etapas (etapas 0-4). Las etapas se definen como sigue y pueden ser vigiladas mediante comparación con la pierna no inyectada (izquierda) del ratón:

Etapa 0: normal, sin signo de cualquier cambio en el hueso.

Etapa 1: lesión equívoca o mínima; cortex/arquitectura normal.

Etapa 2: lesión definida; mínima interrupción de cortex/arquitectura.

Etapa 3: lesión grande; interrupción de cortex/arquitectura.

Etapa 4: gran destrucción; sin preservación de arquitectura, "etapa terminal". Los animales que alcancen esta etapa serán retirados del estudio y se les aplicará eutanasia.

Durante el estudio se usa la formación de imágenes por fotones de las piernas, para evaluar el crecimiento de tumor en los sitios de inyección y remoto, usando el sistema Xenogen para cuantificar las células de tumor en la tibia y confirmar la ausencia de fugas hacia otras áreas. Se toman radiogramas de las piernas hasta una vez a la semana hasta el final del estudio, usando la unidad de rayos X Faxitron para evaluar la destrucción de hueso cortical en el sitio de inyección. Mientras se usan líneas de células más invasivas, tales como la PC-3M-Luc, se vigila el daño de hueso de una a dos semanas después de la inyección y semanalmente después de ello. Para líneas de células que forman lesiones a una menor tasa, tales como la MDAMB-231Luc, que no manifiestan daño en el hueso hasta 4-5 semanas después del implante, se toman las primeras imágenes radiográficas aproximadamente 4 semanas después de que a los animales se ha implantado de modo intratibial células para establecer controles de línea base, y luego una vez a la semana para medir el daño en el hueso, partiendo en un punto del tiempo cuando las lesiones comienzan a desarrollarse, con base en estudios piloto de desarrollo del modelo. Por ejemplo, en ratones inyectados con MDA-MB-231Luc, se tomaría una imagen aproximadamente 4 semanas después del implante, con imágenes semanales después de ello.

A los animales pueden dosificarse moléculas pequeñas, anticuerpos monoclonales, o proteínas una o dos veces diariamente, por cualquier ruta estándar.

El punto final de este estudio es el momento en el cual la mayoría de animales no tratados (control negativo) ha alcanzado enfermedad en etapa terminal (etapa 4) y tiene que aplicárseles eutanasia. En ese momento, los animales restantes en el estudio son sometidos a eutanasia, independientemente de la etapa de sus tumores. Los estudios tardan aproximadamente 5-10 semanas, dependiendo de la línea de células. Una vez se ha tomado el examen final de rayos X, se extrae sangre de los animales mediante punción cardíaca (para prueba de marcadores de suero de hueso; véase posteriormente). Las imágenes de punto final de rayos X son entonces distribuidas a 5 voluntarios quienes clasifican cada imagen de acuerdo con el sistema de puntaje detallado anteriormente. Se toman promedios de los puntajes para cada ratón y se expresan como puntaje osteolítico promedio o porcentaje de animales con osteólisis severa (animales con puntajes mayores a 2).

Ejemplo biológico 8

Ensayo de ratón Trap5b (IDS Inc., Fountain Hills, AZ)

Este ensayo es un ensayo de actividad enzimática fijado por inmunidad en fase sólida, para la determinación de fosfatasa ácida 5b resistente al tartrato derivada de osteoclasto, en muestras de suero de ratón. Trap5b se expresa por osteoclastos que resorben hueso y es secretada dentro de la circulación. Así, se considera que el suero Trap5b es un marcador útil de número, actividad de osteoclasto y resorción de hueso.

El ensayo de ratón Trap5b usa un anticuerpo policlonal preparado, usando como antígeno Trap5b recombinante de ratón. En la prueba, el anticuerpo es incubado en pozos de microtítulo cubiertos con IgG anticonejo. Después del lavado se incuban en los pozos el estándar, controles y muestras de suero diluido, y se determina la actividad ligada a Trap5b con un sustrato cromogénico para desarrollar color. Se detiene la reacción y se lee la absorbancia de la mezcla de reacción en un lector de placas de microtítulo a 405 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad y actividad de Trap5b presente en la muestra. Realizando una gráfica del promedio de absorbancia para cada estándar en la ordenada contra la concentración en la abscisa, pueden leerse valores para

muestras desconocidas a partir de la curva estándar y expresarse en U/L de Trap5b. La sensibilidad analítica del ensayo es 0.1 U/L y la variación dentro del ensayo y entre los ensayos está por debajo de 10%. Se encontró que los niveles de Trap5b tenían buena correlación con el promedio de puntaje osteolítico (evaluado por rayos x).

5 Mientras se han descrito en detalle varias realizaciones preferidas de la invención y variaciones de las mismas, otras modificaciones y métodos de uso serán fácilmente evidentes para aquellos expertos en la técnica. De acuerdo con ello, debería entenderse que pueden hacerse diferentes aplicaciones, modificaciones y sustituciones de equivalentes, sin apartarse del espíritu de la invención o del alcance las reivindicaciones.

10 Las actividades de inhibición porcentuales de los compuestos de las tablas 2 y 3, cuando se prueban a aproximadamente 1µM en el ensayo indicado, como se describe en los Ejemplos biológicos, son mostrados respectivamente en las tablas 5, 6, y 7. Se contempla que los compuestos que tienen una inhibición de 0 % a 1µM exhibirán actividades inhibitorias a una concentración mayor. Un "N/D" indica que el compuesto no fue probado en el ensayo particular.

Tabla 5. Actividades de los compuestos de la tabla 2

| Comp. | PDGFRβ | CSF-1R | cKit | M-NFS-60 CP | pCSF1R |
|-------|--------|--------|------|-------------|--------|
| 52 | 50 | 100 | 12 | 56 | 71 |
| 137 | 98 | 100 | 45 | 100 | 98 |
| 157 | 20 | 100 | 20 | 100 | 99 |

15 Tabla 6. Actividades de los compuestos de la tabla 3

| Comp. | PDGFRβ | CSF-1R | cKit | M-NFS-60 CP | pCSF1R |
|-------|--------|--------|------|-------------|--------|
| 7 | 9 | 100 | 12 | 35 | N/D |
| 10 | 9 | 67 | 0 | N/D | N/D |
| 11 | 60 | 100 | 0 | 69 | 92 |
| 12 | 1 | 95 | 0 | N/D | N/D |
| 13 | 0 | 93 | 9 | N/D | N/D |
| 14 | 0 | 96 | 3 | N/D | N/D |
| 15 | 7 | 99 | 15 | 4 | N/D |
| 16 | 9 | 99 | 12 | 30 | N/D |
| 17 | 12 | 99 | 19 | 23 | N/D |
| 18 | 23 | 99 | 80 | 22 | N/D |
| 19 | 0 | 96 | 8 | 23 | N/D |
| 20 | 0 | 76 | 0 | N/D | N/D |
| 47 | 4 | 100 | 0 | 55 | 83 |
| 48 | 16 | 99 | 14 | 26 | |
| 49 | 12 | 100 | 21 | 33 | 77 |
| 50 | 14 | 99 | 13 | 18 | N/D |
| 51 | 0 | 95 | 10 | N/D | N/D |
| 125 | 9 | 99 | 2 | 17 | N/D |
| 155 | 18 | 99 | 34 | 0 | N/D |
| 156 | 3 | 100 | 36 | 33 | N/D |
| 157 | 17 | 100 | 43 | 42 | N/D |

ES 2 654 847 T3

| Cont. | | | | | |
|-------|---------------|--------|------|-------------|--------|
| Comp. | PDGFR β | CSF-1R | cKit | M-NFS-60 CP | pCSF1R |
| 158 | 1 | 99 | 27 | 0 | N/D |
| 159 | 23 | 100 | 29 | 98 | 96 |
| 160 | 19 | 100 | 95 | 30 | N/D |
| 161 | 26 | 54 | 20 | N/D | N/D |
| 162 | 30 | 100 | 20 | 100 | 99 |
| 164 | 87 | 100 | 79 | 100 | 100 |
| 165 | 83 | 100 | 83 | 100 | 98 |
| 166 | 0 | 100 | 13 | 49 | 78 |
| 167 | 0 | 100 | 16 | 24 | N/D |
| 168 | 43 | 100 | 40 | 100 | 99 |
| 169 | 0 | 75 | 12 | N/D | N/D |
| 170 | 23 | 100 | 28 | 100 | 96 |
| 171 | 18 | 100 | 25 | 96 | 95 |
| 172 | 18 | 100 | 22 | 100 | 97 |
| 173 | 8 | 100 | 18 | 52 | 81 |
| 174 | 3 | 86 | 18 | N/D | N/D |
| 175 | 1 | 100 | 11 | 17 | N/D |
| 176 | 0 | 63 | 12 | N/D | N/D |
| 177 | 0 | 67 | 15 | N/D | N/D |
| 178 | -3 | 82 | 17 | N/D | N/D |
| 179 | 16 | 98 | 10 | 27 | N/D |
| 180 | 12 | 100 | 23 | 96 | 93 |
| 181 | 17 | 72 | 27 | N/D | N/D |
| 182 | 4 | 100 | 16 | 100 | 98 |
| 184 | 84 | 100 | 45 | 100 | 95 |
| 185 | 29 | 100 | 32 | 100 | 94 |
| 186 | 14 | 100 | 13 | 100 | 99 |
| 187 | 25 | 100 | 32 | 100 | 98 |
| 188 | 35 | 100 | 55 | 38 | N/D |
| 189 | 23 | 100 | 31 | 26 | N/D |
| 190 | 19 | 98 | 22 | 5 | N/D |
| 191 | 15 | 45 | 19 | N/D | N/D |
| 192 | 22 | 99 | 56 | 14 | N/D |
| 193 | 15 | 95 | 27 | 0 | N/D |
| 194 | 16 | 77 | 20 | N/D | N/D |
| 195 | 25 | 81 | 90 | N/D | N/D |
| 196 | 23 | 100 | 29 | 100 | 98 |

ES 2 654 847 T3

| Cont. | | | | | |
|-------|---------------|--------|------|-------------|--------|
| Comp. | PDGFR β | CSF-1R | cKit | M-NFS-60 CP | pCSF1R |
| 197 | 89 | 100 | 93 | 100 | 98 |
| 200 | 19 | 100 | 29 | 69 | 83 |
| 203 | 15 | 98 | 22 | 20 | N/D |
| 209 | 1 | 100 | 17 | 36 | N/D |
| 224 | 0 | 100 | 26 | 33 | N/D |
| 225 | 0 | 90 | 21 | N/D | N/D |
| 226 | 0 | 80 | 20 | N/D | N/D |
| 231 | 49 | 100 | 9 | 100 | 99 |
| 232 | 64 | 100 | 34 | 100 | 99 |
| 258 | 62 | 100 | 44 | 100 | 99 |
| 259 | 6 | 100 | 24 | 100 | 98 |
| 260 | 0 | 100 | 25 | 100 | 98 |
| 261 | 30 | 100 | 25 | 100 | 98 |
| 262 | 3 | 100 | 20 | 46 | 48 |
| 265 | 12 | 100 | 9 | 32 | N/D |
| 266 | 21 | 100 | 18 | 100 | 94 |
| 267 | 26 | 100 | 16 | 100 | 96 |
| 280 | 22 | 100 | 11 | 100 | 65 |
| 281 | 36 | 100 | 22 | 100 | 96 |
| 282 | 7 | 99 | 23 | 22 | N/D |
| 283 | 20 | 99 | 38 | 0 | N/D |
| 284 | 53 | 100 | 61 | 100 | N/D |
| 285 | 8 | 99 | 33 | 0 | N/D |
| 286 | 0 | 100 | 23 | 71 | 94 |
| 287 | 20 | 100 | 57 | 35 | N/D |
| 288 | 24 | 100 | 78 | 70 | N/D |
| 291 | 0 | 48 | 4 | N/D | N/D |
| 293 | 0 | 100 | 22 | 67 | 82 |
| 320 | 20 | 100 | 16 | 25 | N/D |
| 322 | 11 | 99 | 18 | 21 | N/D |
| 324 | 19 | 99 | 21 | 15 | N/D |
| 344 | 65 | 100 | 45 | 100 | 95 |
| 345 | 13 | 100 | 19 | 97 | 93 |
| 346 | 0 | 100 | 13 | 67 | 84 |
| 359 | 19 | 100 | 31 | 95 | 93 |
| 360 | 16 | 100 | 29 | 100 | 98 |
| 368 | 8 | 100 | 24 | 12 | N/D |

| Cont. | | | | | |
|-------|---------------|--------|------|-------------|--------|
| Comp. | PDGFR β | CSF-1R | cKit | M-NFS-60 CP | pCSF1R |
| 369 | 12 | 100 | 26 | 44 | N/D |
| 371 | 9 | 100 | 29 | 69 | 79 |
| 372 | 8 | 100 | 21 | 75 | 88 |
| 376 | 28 | 100 | 72 | 87 | 77 |
| 377 | 49 | 100 | 75 | 93 | N/D |
| 378 | 43 | 100 | 62 | 90 | 87 |
| 381 | 20 | 100 | 30 | 100 | 99 |

En la especificación se citan las siguientes referencias.

5 Sherr, C.J., et al., el producto proto-oncogen c-fms está relacionado con el receptor para el factor de crecimiento de fagocito mononuclear, CSF 1. *Cell*, 1985. 41(3): p. 665-676.

Roussel, M.F., et al., potencial de transformación del proto-oncogen c-fms (receptor CSF-1). 1987. 325(6104): p. 549-552.

Lee, P.S., et al., la protooncoproteína Cbl estimula la multiubiquitinación y endocitosis de receptor CSF-1, y atenúa la proliferación de macrófago. *Embo J*, 1999. 18(13): p. 3616-28.

10 Inaba, T., et al., expresión del receptor M-CSF codificado por c-fms en células de músculo suave, derivadas de lesión arteriosclerótica. *J Biol Chem*, 1992. 267(8): p. 5693-9.

Baker, A.H., et al., expresión del receptor de factor 1 que estimula colonia en B lymphocytes. *Oncogene*, 1993. 8(2): p. 371-8.

15 Sawada, M., et al., activación y proliferación de las microglías aisladas por factor-1 que estimula colonia y posible involucramiento de quinasa de proteína C. *Brain Res*, 1990. 509(1): p. 119-24.

Stanley, E.R., et al., biología y acción de factor-1 estimulante de colonia. *Mol Reprod Dev*, 1997. 46(1): p. 4-10.

Bourette, R.P. y L.R. Rohrschneider, eventos tempranos en la señalización de receptor de M-CSF. *Growth Factors*, 2000. 17(3): p. 155-66.

20 Pollard, J.W., papel del factor-1 que estimula colonia, en la reproducción y desarrollo. *Mol Reprod Dev*, 1997. 46(1): p. 54-60; discussion 60-1.

Dai, X.M., et al., la interrupción focalizada del gen de receptor de factor 1 de ratón que estimula colonia, da como resultado osteopetrosis, deficiencia de fagocito mononuclear, aumento en la frecuencia de células progenitoras primitivas, y defectos reproductivos. *Blood*, 2002. 99(1): p. 111-20.

25 Scholl, S.M., et al., tinción de anticuerpo de factor-1 que estimula anticlonia en adenocarcinomas primarios de mama tiene correlación con infiltrados de célula inflamatoria marcada y pronóstico. *J Natl Cancer Inst*, 1994. 86(2): p. 120-6.

Kacinski, B.M., CSF-1 y su receptor en carcinomas y neoplasmas de mama del tracto reproductivo femenino. *Mol Reprod Dev*, 1997. 46(1): p. 71-4.

30 Ngan, H.Y., et al., expresión de proto-oncogenes y proteína p53 en neoplasia del epitelio escamoso estratificado normal cervical y cervical intra-epitelial. *Eur J Cancer*, 1999. 35(10): p. 1546-50.

Kirma, N., et al., expresión elevada del oncogen c-fms y su ligando, el factor-1 que estimula colonia de macrófago, en cáncer cervical y el papel del factor-beta1 que transforma crecimiento, en la inducción de expresión de c-fms. *Cancer Res*, 2007. 67(5): p. 1918-26.

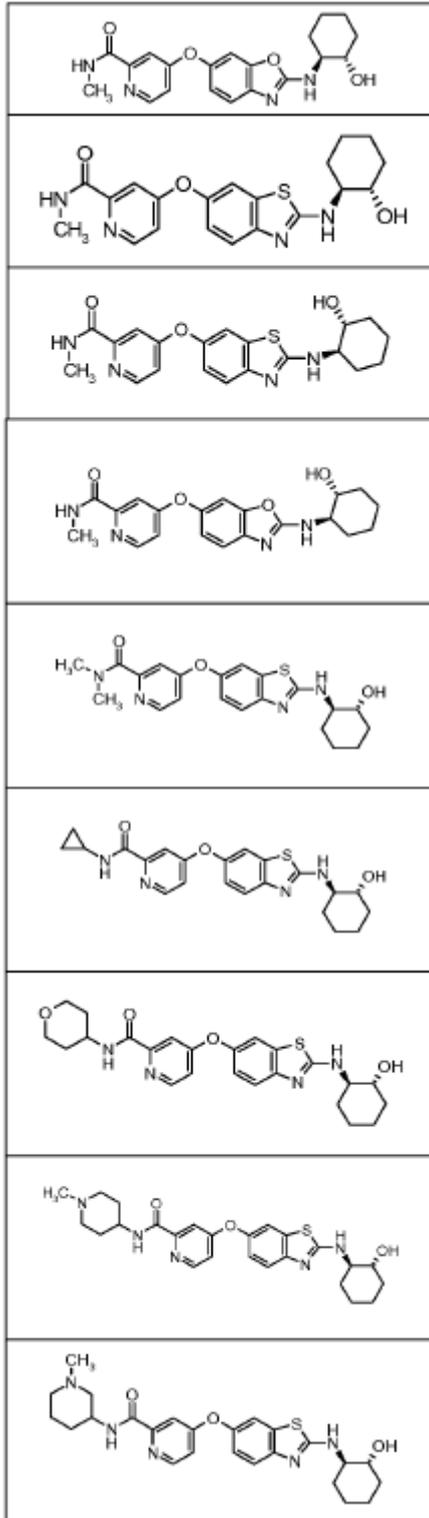
35 Ridge, S.A., et al., mutaciones de FMS en sujetos mielodisplásicos, leucémicos y normales. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990. 87(4): p. 1377-80.

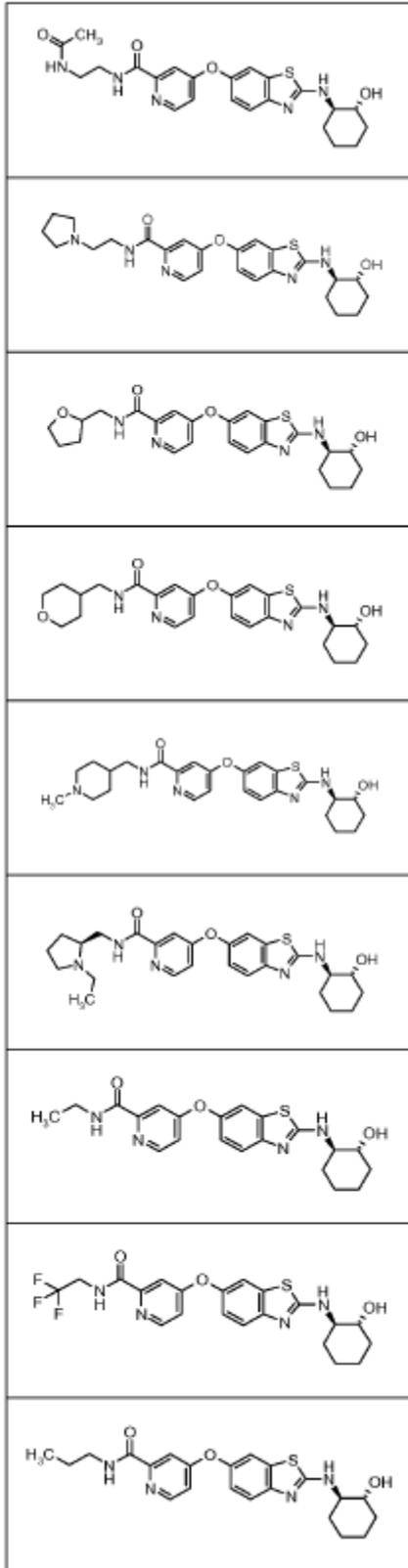
- Abu-Duhier, F.M., et al., análisis mutacional de quinasa de tirosina de receptor clase III (C-KIT, C-FMS, FLT3) en mielofibrosis idiopática. *Br J Haematol*, 2003. 120(3): p. 464-70.
- Yang, D.H., et al., la relación entre mutación puntual y expresión anormal de oncogen c-fms en carcinoma hepatocelular. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2004. 3(1): p. 86-9.
- 5 West, R.B., et al., un efecto de paisaje en tumor tenosinovial de células gigante de activación de expresión de CSF1, por una translocación en una minoría de células de tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. 103(3): p. 690-5.
- Tanaka, S., et al., el factor estimulante de colonia de macrófago es indispensable para la proliferación y diferenciación de progenitores de osteoclasto. *J Clin Invest*, 1993. 91(1): p. 257-63.
- 10 Choueiri, M.B., et al., el papel central de osteoblastos en la metástasis de cáncer de próstata. *Cancer Metastasis Rev*, 2006. 25(4): p. 601-9.
- Vessella, R.L. and E. Corey, factores de focalización involucrados en la remodelación de hueso como estrategias de tratamiento en metástasis de hueso por cáncer de próstata. *Clin Cancer Res*, 2006. 12(20 Pt 2): p. 6285s-6290s.
- Bingle, L., N.J. Brown, and C.E. Lewis, el papel de macrófagos asociados con tumor, en el progreso del tumor: implicaciones para nuevas terapias contra el cáncer. *J Pathol*, 2002. 196(3): p. 254-65.
- 15 Pollard, J.W., los macrófagos educados de tumor promueven el progreso del tumor y la metástasis. *Nat Rev Cancer*, 2004. 4(1): p. 71-8.
- Zins, K., et al., El factor de necrosis tumoral α derivado de células de cáncer de colon media la respuesta promotora del crecimiento tumoral en macrófagos mediante la regulación hacia arriba de la vía 10 del factor 1 estimulante de colonias. 1158/0008-5472.CAN-06-2295. *Cancer Res*, 2007. 67(3): p. 1038-1045.
- 20 Paulus, P., et al., el anticuerpo de factor-1 que estimula colonia revoca la quimio resistencia en injertos de cáncer de mama MCF-7 humana. 1158/0008-5472.CAN-05-3523. *Cancer Res*, 2006. 66(8): p. 4349-4356.
- Balkwill, F., K.A. Charles, y A. Mantovani, la inflamación latente y polarizada en el inicio y progreso de enfermedad maligna. *Cancer Cell*, 2005. 7(3): p. 211-7.
- 25 Mantovani, A., et al., el sistema de quimioquina en diversas formas de activación y polarización de macrófago. *Trends Immunol*, 2004. 25(12): p. 677-86.
- Balkwill, F., TNF-alpha en promoción y progreso de cáncer. *Cancer Metastasis Rev*, 2006. 25(3): p. 409-16.
- Cohen, M.S., et al., diseño estructural a base de bioinformática de inhibidores selectivos irreversibles de quinasa. *Science*, 2005. 308(5726): p. 1318-21.
- 30 Rabello, D., et al., gen de CSF1 asociado con periodontitis agresiva en la población japonesa. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 347(3): p. 791-6.
- da Costa, C.E., et al., presencia en el hueso de células gigantes similares a osteoclasto con varios núcleos y lesiones no ostíicas de histiocitosis de célula de Langerhans. *J Exp Med*, 2005. 201(5): p. 687-93.
- Cenci, S., et al., neutralización de M-CSF y deficiencia de egr-1 previenen la pérdida de hueso inducida por ovariectomía. *J Clin Invest*, 2000. 105(9): p. 1279-87.
- 35 Roggia, C., et al., papel de células T que producen TNF-alpha en la pérdida de hueso inducida por deficiencia de estrógeno. *Minerva Med*, 2004. 95(2): p. 125-32.
- Kitaura, H., et al., M-CSF media la osteólisis inflamatoria inducida por TNF. *J Clin Invest*, 2005. 115(12): p. 3418-27.
- Daroszewska, A. and S.H. Ralston, mecanismos de enfermedad: genética de la enfermedad de Paget de hueso y desórdenes relacionados. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006. 2(5): p. 270-7.
- 40 Lester, J.E., et al., manejo actual de pérdida de hueso inducida por tratamiento en mujeres con cáncer de mama, tratadas en el Reino Unido. *Br J Cancer*, 2006. 94(1): p. 30-5.
- Lester, J., et al., las causas y tratamiento de pérdida de hueso asociada con carcinoma de mama. *Cancer Treat Rev*, 2005. 31(2): p. 115-42.
- 45 Stoch, S.A., et al., pérdida de hueso en hombres con cáncer de próstata, tratados con agonistas de hormona que libera gonadotropina. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(6): p. 2787-91.

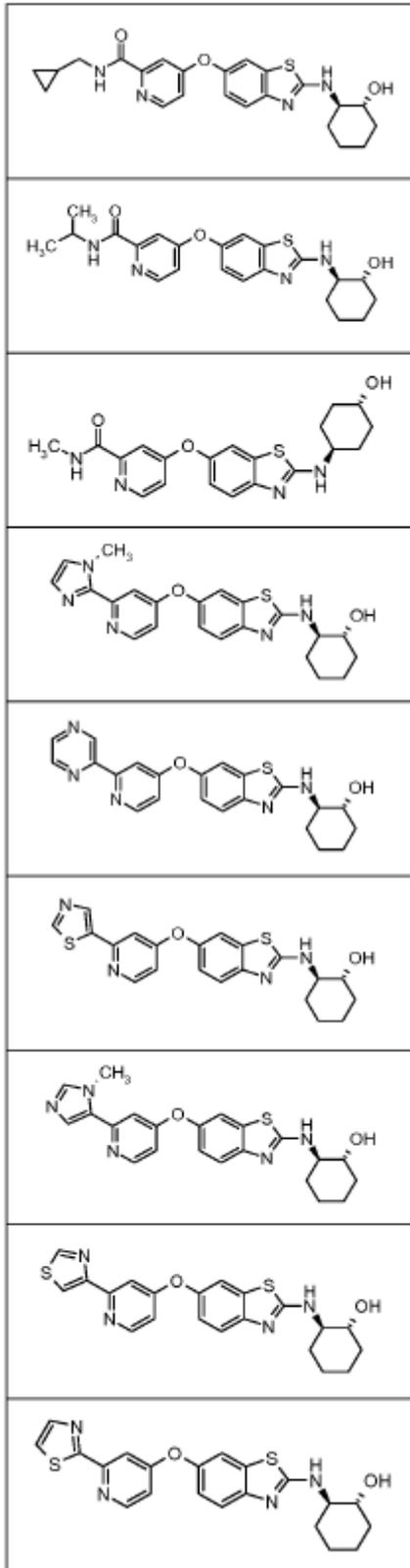
- Drees, P., et al., mecanismos de enfermedad: entendimiento molecular dentro del aflojamiento aséptico de implantes ortopédicos. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2007. 3(3): p. 165-71.
- Guzman-Clark, J.R., et al., barreras en el manejo de osteoporosis inducida por glucocorticoide. *Arthritis Rheum*, 2007. 57(1): p. 140-6.
- 5 Feldstein, A.C., et al., patrones de práctica en pacientes en riesgo de osteoporosis inducida por glucocorticoide. *Osteoporos Int*, 2005. 16(12): p. 2168-74.
- Ritchlin, C.T., et al., mecanismos de osteoclastogénesis mediada por TNF-alpha y RANKL y resorción de hueso en artritis psoriática. *J Clin Invest*, 2003. 111(6): p. 821-31.
- Campbell, I.K., et al., los factores que estimulan colonia y artritis inducida por colágeno: exacerbación de enfermedad por MCSF y G-CSF y requerimientos para M-CSF endógeno. *J Leukoc Biol*, 2000. 68(1): p. 144-50.
- 10 Saitoh, T., et al., significado clínico de aumento en la concentración en plasma de factor que estimula la colonia de macrófagos en pacientes con angina pectoris. *J Am Coll Cardiol*, 2000. 35(3): p. 655-65.
- Ikonomidis, I., et al., el aumento en la proteína reactiva C circulante y factor estimulante de colonia de macrófago, son predictores complementarios del desenlace de largo plazo en pacientes con enfermedad de arteria coronaria crónica. *Eur Heart J*, 2005. 26(16): p. 1618-24.
- 15 Murayama, T., et al., la administración intraperitoneal de anticuerpo monoclonal anti-c-fms previene eventos iniciales de aterogénesis pero no reduce el tamaño de lesiones avanzadas en ratones deficientes en apolipoproteína E. *Circulation*, 1999. 99(13): p. 1740-6.
- Hao, A.J., S.T. Dheen, and E.A. Ling, la expresión de factor estimulante de colonia de macrófago y su receptor en activación de microglía está asociada con daño neuronal inducido por teratógeno. *Neuroscience*, 2002. 112(4): p. 889-900.
- 20 Murphy, G.M., Jr., L. Yang, and B. Cordell, el factor estimulante de colonia de macrófago aumenta la producción de interleuquina-1, interleuquina-6, y óxido nítrico inducida por beta amiloide, por células microgliales. *J Biol Chem*, 1998. 273(33): p. 20967-71.
- 25 Murphy, G.M., Jr., et al., la expresión de receptor de factor estimulante de colonia de macrófago es aumentada en el modelo de ratón transgénico AbetaPP(V717F) de enfermedad de Alzheimer. *Am J Pathol*, 2000. 157(3): p. 895-904.
- Kaku, M., et al., deposición de proteína amiloide beta y pérdida de neurona en ratones osteopetróticos (op/op). *Brain Res Brain Res Protoc*, 2003. 12(2): p. 104-8.

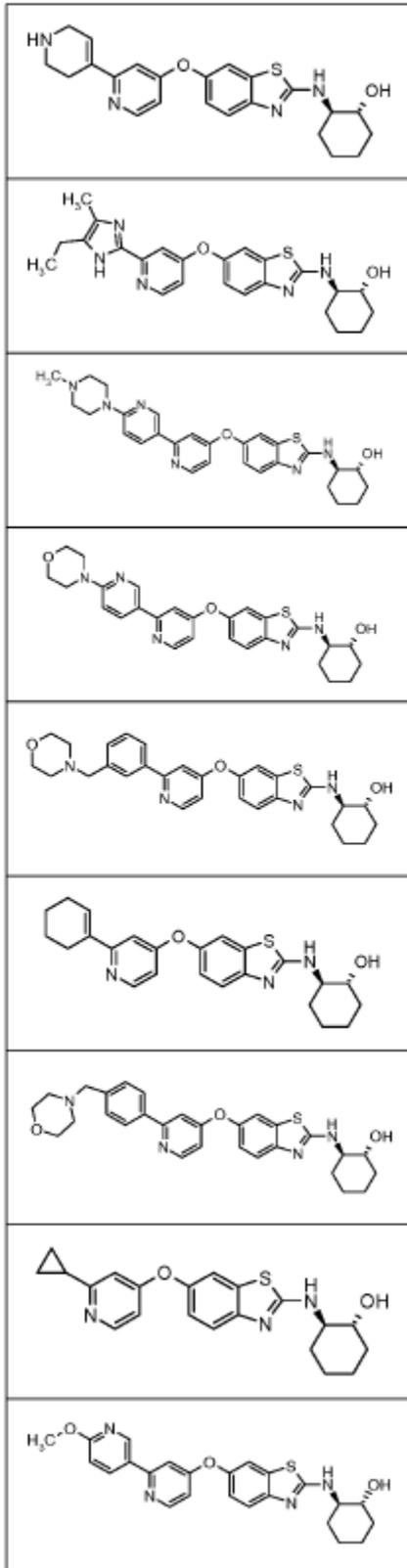
REIVINDICACIONES

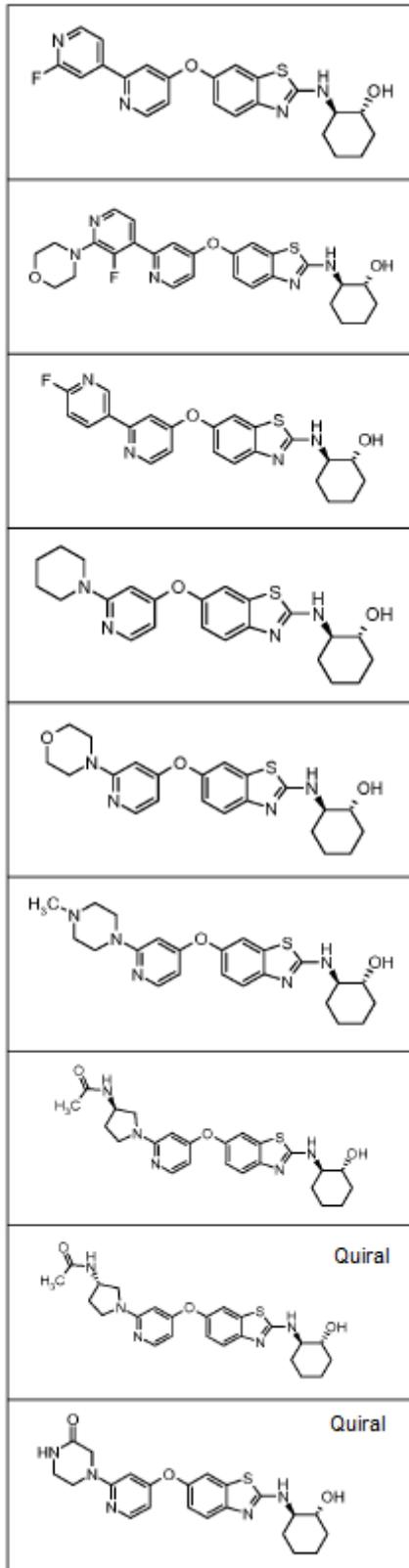
1. Un compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en

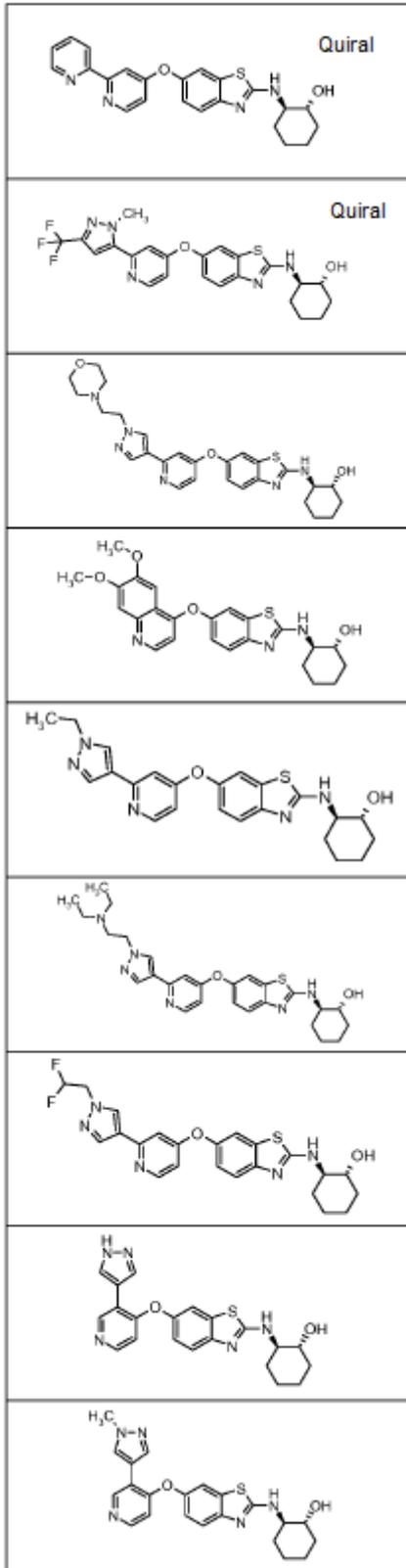


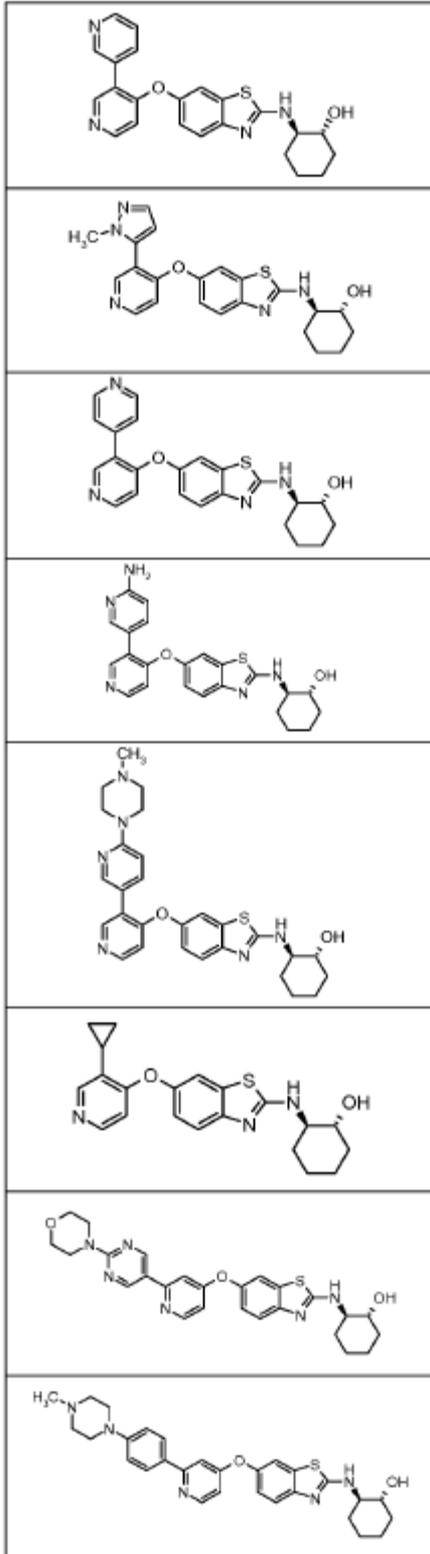


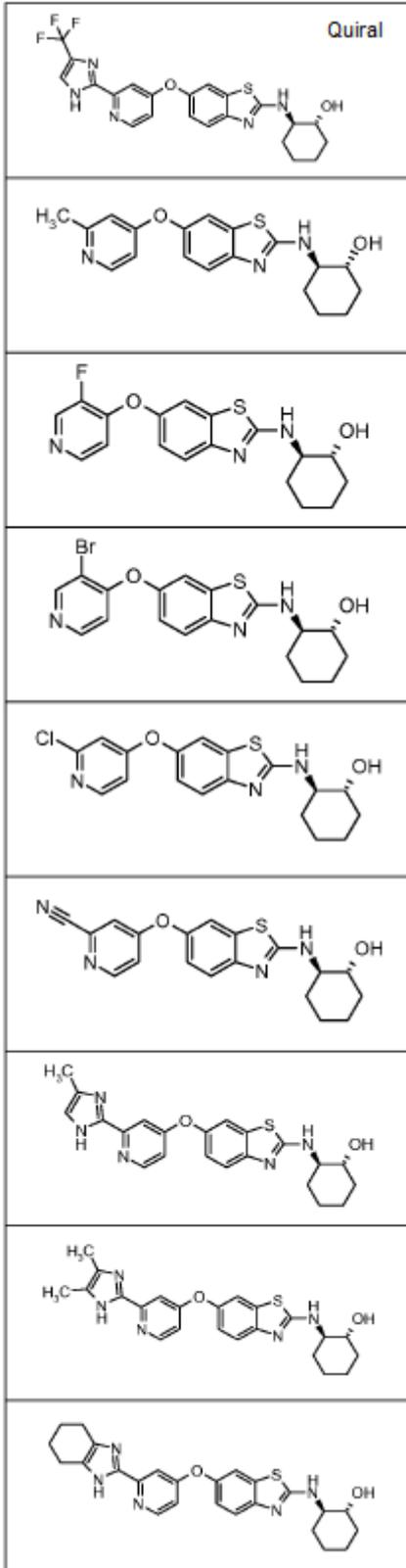


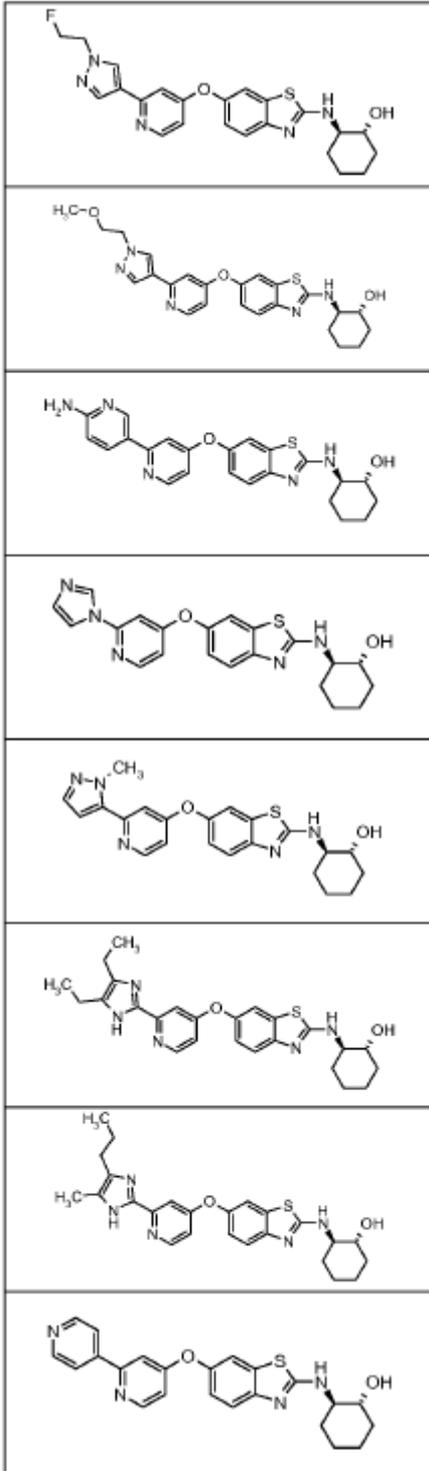


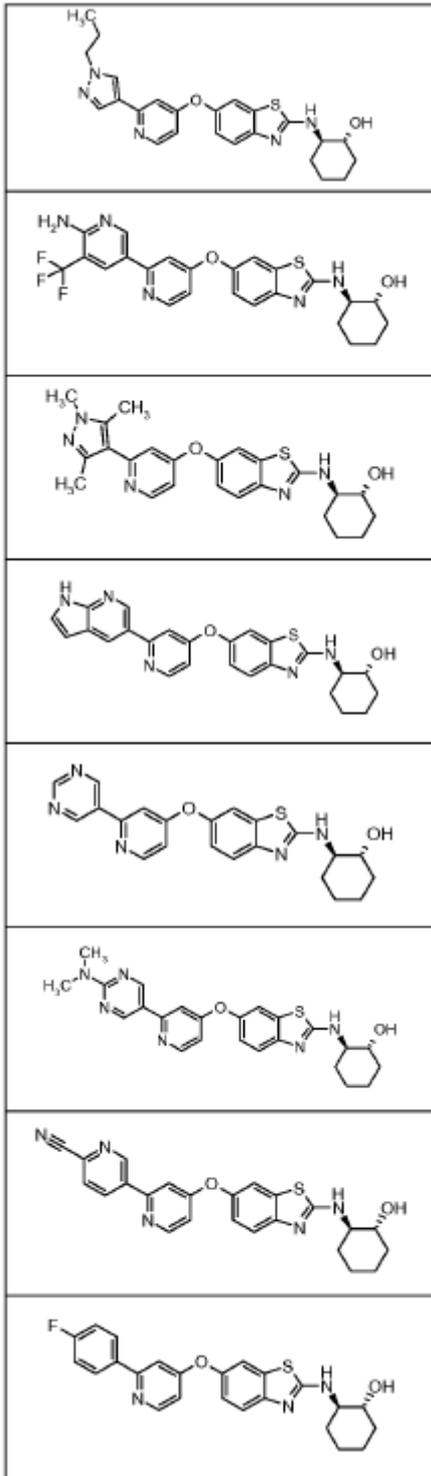


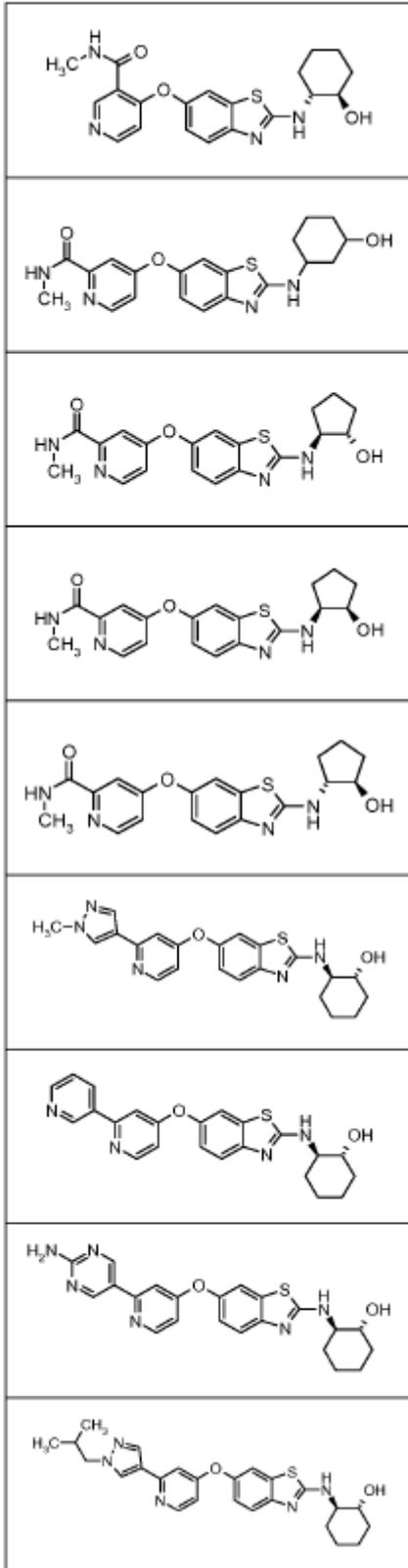


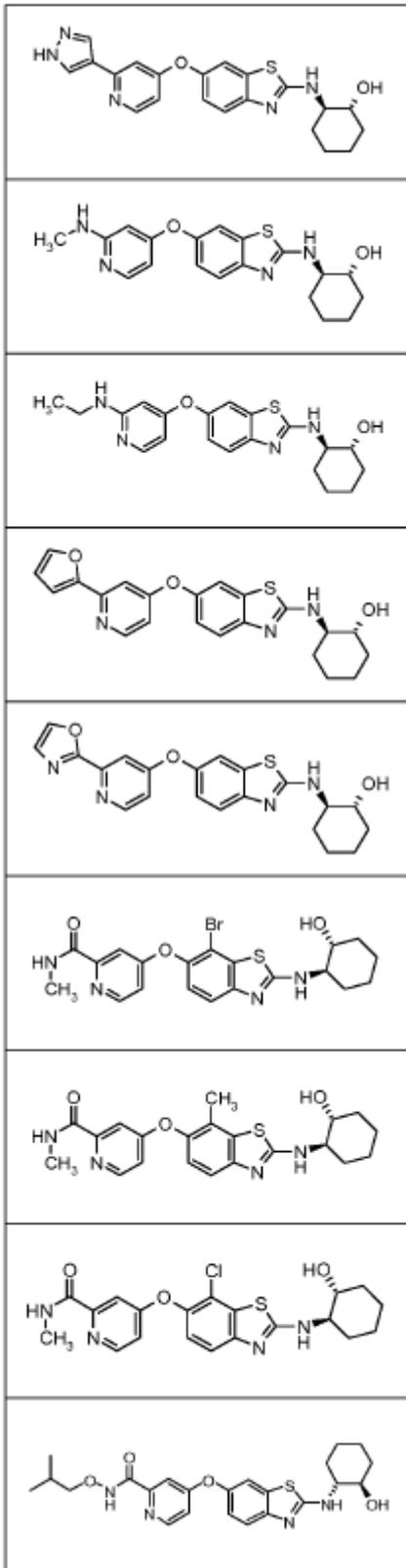






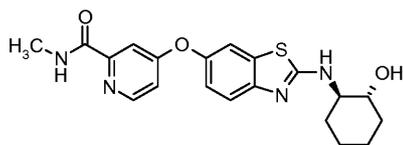






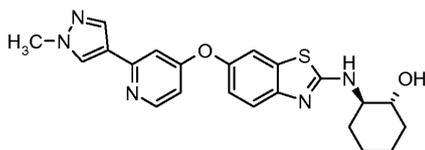
o un estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido, o sal derivada del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto de la reivindicación 1 que es



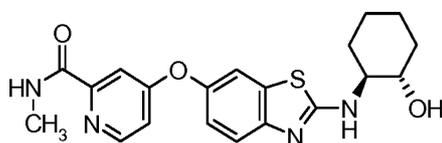
o un solvato, óxido, o sal derivada del mismo farmacéuticamente aceptable

3. El compuesto de la reivindicación 1 que es



5 o un solvato, óxido, o sal derivada del mismo farmacéuticamente aceptable.

4. El compuesto de la reivindicación 1 que es



o un solvato, óxido, o sal derivada del mismo farmacéuticamente aceptable.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 to 4 junto con vehículos farmacéuticamente aceptables.

6. Uso de un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer, osteoporosis, artritis, aterosclerosis, leucemia mielocítica, mielofibrosis idiopática, cáncer de mama, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer hepatocelular, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de huesos y artritis reumatoide.

7. Un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en una cantidad efectiva para reducir o prevenir el crecimiento del tumor en un sujeto, en combinación con por lo menos un agente adicional para el tratamiento de cáncer.

8. El compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 7 en el que el agente adicional para el tratamiento de cáncer es seleccionado de entre moduladores de receptor de estrógeno, moduladores de receptor de andrógeno, moduladores de receptor de retinoide, agentes citotóxicos/citoestáticos, agentes antiproliferativos, inhibidores de transferasa de prenil-proteína, inhibidores de reductasa HMG-CoA y otros inhibidores de angiogénesis, inhibidores de proliferación celular y señalización de supervivencia, agentes que inducen apoptosis y agentes que interfieren con puntos de evaluación del ciclo celular, inhibidores de proteasa de HIV e inhibidores de transcriptasa inversa.

9. un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de cáncer, osteoporosis, artritis, aterosclerosis, leucemia mielocítica, mielofibrosis idiopática, cáncer de mama, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer hepatocelular, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de huesos y artritis reumatoide.

10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en coadministración con terapia de radiación.

11. Una combinación que comprende un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 to 4 y uno o más agentes usados en el tratamiento de cáncer.

12. Un compuesto, estereoisómero, tautómero, solvato, u óxido o sal del mismo farmacéuticamente aceptable de

acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y por lo menos un agente terapéutico adicional para uso en el tratamiento de cáncer.