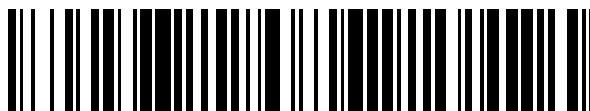


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 796 358**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 209/34 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

C07C 205/57 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.12.2016 PCT/GB2016/054069**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.06.2017 WO17109513**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.12.2016 E 16820318 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3394048**

54 Título: **Compuestos de indolinonas y su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas**

30 Prioridad:

24.12.2015 EP 15202764

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

26.11.2020

73 Titular/es:

**RESPIVERT LIMITED (100.0%)
50-100 Holmers Farm Way
High Wycombe, Buckinghamshire HP12 4EG, GB**

72 Inventor/es:

**WALTERS, IAIN;
BIRCH, LOUISE;
HILL-COUSINS, JOSEPH;
COLLINGWOOD, STEPHEN, PAUL y
STEVENSON, CHRISTOPHER, SCOTT**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 796 358 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 indolinonas y su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas

5 Campo de la invención

La invención se refiere, entre otras cosas, a compuestos novedosos que inhiben las proteínas quinasas y a su uso en terapia, en particular para el tratamiento de enfermedades fibróticas o enfermedades pulmonares intersticiales, especialmente la fibrosis pulmonar idiopática y enfermedades respiratorias. La invención también abarca
10 composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos.

Antecedentes de la invención

Las enfermedades pulmonares intersticiales (EPI) se caracterizan por la formación de cicatrices en el pulmón que
15 provocan una disfunción pulmonar, que a su vez pueden un fallo respiratorio. Hay muchas EPI sin causa conocida, que se denominan idiopáticas. La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es el tipo más común de EPI. La FPI afecta a alrededor de 170.000 personas en Europa y 130.000 personas en Estados Unidos, con aproximadamente 48.000 nuevos casos diagnosticados cada año solo en Estados Unidos y 40.000 fallecimientos anuales en Estados Unidos. Las tasas de mortalidad por FPI son muy elevadas, con una supervivencia media de 3 a 5 años a partir el diagnóstico
20 y tasas de supervivencia a 5 años reportadas inferiores al 30%, a la par con los cánceres más letales. Hasta hace poco, pocas opciones de tratamiento, aparte del trasplante de pulmón, han demostrado ser efectivas y el tratamiento para la mayoría de los pacientes ha consistido en el control de los síntomas y cuidados paliativos.

La FPI es una enfermedad crónica y mortal caracterizada principalmente por una disminución progresiva de la función
25 pulmonar causada por la formación de cicatrices en el tejido pulmonar, que provoca un empeoramiento de la disnea. El factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), el factor de crecimiento de los fibroblastos (FCF) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP) son mitógenos conocidos y potentes para las células de los fibroblastos, que posteriormente reemplazan el tejido normal de los pulmones cuando se produce la fibrosis. En las EPI, se ha demostrado clínicamente la evidencia del papel patógeno del PDGF, el VEGF y el FGF. El principal sitio afectado es
30 el intersticio, el tejido situado entre los sacos de aire del pulmón, pero también afecta a los espacios de aire, las vías respiratorias periféricas y los vasos. Se cree que el proceso de la enfermedad se inicia por una serie de microlesiones en el epitelio alveolar del pulmón. Después de la lesión, el aumento de la permeabilidad vascular provoca la formación de coágulos y las células epiteliales residentes proliferan en un intento de reemplazar las células que murieron como resultado de la lesión. Este proceso desencadena la liberación de diversos factores de crecimiento (por ejemplo, PDGF,
35 VEGF, FGF y factor de crecimiento transformante β (FCT β)), lo que provoca la activación aberrante de las células epiteliales, la remodelación vascular anormal y, sobre todo, la proliferación y migración de fibroblastos al pulmón. Los factores de crecimiento también inducen a las células residentes a transformarse en miofibroblastos, que junto con los fibroblastos se organizan en focos (King TE Jr, y col., Lancet, 2011, 3;378(9807):1949-61; Selman M, y col., Ann Intern Med., 2001, 16;134(2):136-51). Estos cambios celulares tienen como resultado la alteración de la membrana basal y
40 la acumulación excesiva de proteínas de la matriz extracelular en el espacio intersticial. El resultado es la eventual destrucción de la arquitectura normal de la unidad capilar alveolar y la formación de cicatrices en los pulmones. Las patologías que definen el patrón intersticial habitual (PIH) de la fibrosis característica de la FPI son un patrón heterogéneo de áreas alternas de pulmón normal, inflamación intersticial, fibrosis densa, focos fibroblásticos y panales, especialmente en el área subpleural del pulmón (Du Bois RM., Nat Rev Drug Discov., 2010, 9(2):129-40; Selman M,
45 y col., Ann Intern Med., 2001, 16;134(2):136-51; King TE Jr, y col., Lancet, 2011, 3;378(9807):1949-61). La pérdida de la arquitectura normal y la formación de cicatrices en el espacio intersticial provocan una disminución significativa de la capacidad de intercambio gaseoso, lo que conduce al desarrollo de los síntomas clásicos de la enfermedad, a saber, disnea, tos crónica, crepitaciones inspiratorias durante la auscultación y espirometría anormal (Castrriott RJ, y col., Chest, 2010, 138(3):693-703). Si bien el curso de la enfermedad es heterogéneo, la supervivencia media es de
50 aproximadamente 3 a 5 años y la causa más común de la muerte es la insuficiencia respiratoria debido a las patologías progresivas que alteran el funcionamiento normal de los pulmones y el intercambio gaseoso.

Para lograr una mejor tolerabilidad y también una mejor eficacia en el tratamiento de las afecciones pulmonares puede ser ventajoso administrar un fármaco directamente en el lugar de acción en el pulmón. Esto permite alcanzar mayores
55 concentraciones de fármaco en el lugar de acción, lo que permite una menor dosis total y, por consiguiente, logra una reducción de los efectos secundarios sistémicos.

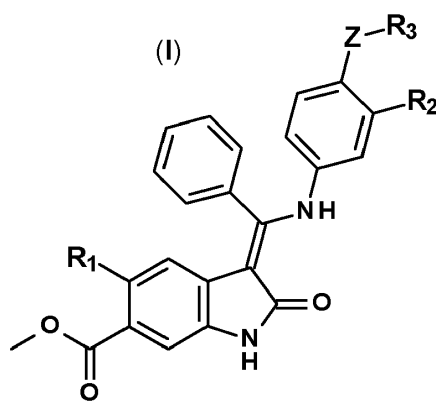
El Nintedanib, un inhibidor de la proteína quinasa, fue aprobado por la FDA en 2014 para el tratamiento de la FPI mediante administración por vía oral. Sin embargo, está asociado a eventos adversos sistémicos significativos,
60 incluyendo dolor abdominal, vómitos y diarrea. WO2006/067165 enseña que se puede esperar que los inhibidores de VEGFR, FGFR y PDGFR, tales como el nintedanib, sean útiles en el tratamiento de enfermedades fibróticas, tales como la FPI. Fehrenbach. H., y col., Virchows Arch., 1999, 435(1):20-31 describe que el VEGFR está vinculado a la

causa de la fibrosis pulmonar. Lindroos. P., Am J Physio Lung Cell Mol Physiol., 2001, 280:L354-L362 enseña que la regulación al alza del receptor de PDGF es un mecanismo de hiperplasia miofibroblástica durante la fibrosis pulmonar. WO01/27081 enseña que los compuestos que tienen efectos inhibidores sobre las quinasas, incluyendo VEGFR, PDGFR y FGFR, son adecuados para el tratamiento de enfermedades fibróticas y describe una serie de indolinonas sustituidas en 6 posiciones. Asimismo, WO2006/067165 y WO2006/067168 también describen indolinonas sustituidas en 6 posiciones para su uso como medicamentos para el tratamiento o la prevención de enfermedades fibróticas.

Existe una necesidad en la técnica de desarrollar más compuestos, especialmente compuestos que sean mejor tolerados que el nintedanib, para tratar enfermedades fibróticas y enfermedades pulmonares intersticiales, tales como la FPI. Deseablemente, tales compuestos tendrían una dosis baja, una acción de duración prolongada adecuada para su administración una, dos o tres veces al día y una buena eficacia y tolerabilidad cuando se administran tópicamente en el pulmón. Los compuestos de fórmula (I) que se describen en esta solicitud abordan esta cuestión.

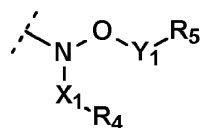
Resumen de la invención

Según la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):

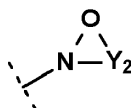


donde

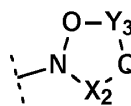
R₁ representa H, Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me;
 R₂ representa H, C₁-C₆ alquilo, C₁-C₆ alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;
 R₃ representa (i)



o (ii)



o (iii)



Q representa un heteroátomo seleccionado de entre O, N y S y si N puede ser sustituido opcionalmente por C₁-alquilo;

Z representa CO o SO₂;

Y₁ representa (CH₂)_n y, excepto cuando n representa 0, puede ser sustituido opcionalmente por Me;

X₁ representa (CH₂)_m y, excepto cuando m representa 0, puede ser sustituido opcionalmente por Me;

n y m representan independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

5 Y₂ representa (CH₂)_s y puede ser sustituido opcionalmente por Me;
s representa 2, 3, 4, 5 o 6;

Y₃ representa (CH₂)_t y puede ser sustituido opcionalmente por Me;

X₂ representa (CH₂)_v y puede ser sustituido opcionalmente por Me;

t y v representan independientemente 2 o 3, salvo que t + v = 4 o 5;

10 R₄ representa H, OH, NR₆R₇ o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, salvo cuando R₄ es OH o NR₆R₇, m es 2, 3, 4 o 5;

R₅ representa H, OH, NR₈R₉ o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, salvo cuando R₅ es OH o NR₈R₉, n es 2, 3, 4 o 5;

15 en el que los grupos heterocíclicos alifáticos que pueden representar R₄ y R₅ pueden contener opcionalmente un grupo carbonilo o sulfona y pueden ser sustituidos opcionalmente por uno o más grupos seleccionados de entre -C₁-C₄alquilo, C₁-C₄hidroxialquilo-, C₁-C₄alcoxi(C₁-C₄)alquilo-, -C₁-C₄alquilenosNR₁₀R₁₁, CN, OH y NR₁₂R₁₃;

R₆, R₇, R₈, R₉ representan independientemente H, o C₁-C₄alquilo opcionalmente sustituido por OH, oxo, NR₁₄R₁₅ o -C₁-C₄alcoxi; y

R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄ y R₁₅ representan independientemente H o C₁-C₄alquilo;

20 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos (en adelante "compuestos de la invención" o "un compuesto de la invención").

Breve descripción de las figuras

25 **Figura 1:** muestra la permeabilidad de la membrana artificial de ejemplos representativos de la invención y de nintedanib (consulte los resultados del ensayo de permeabilidad PAMPA y la Tabla 8: se utilizaron valores medios para los compuestos en los que se repitió el experimento)

30 **Figura 2:** muestra la exposición pulmonar total tras la administración intravenosa e intratraqueal de ejemplos de la invención o nintedanib en ratas (consulte los resultados de las mediciones farmacocinéticas en roedores)

Figura 3: muestra la exposición pulmonar total tras la administración intravenosa e intratraqueal de ejemplos de la invención o nintedanib en ratas (consulte los resultados de las mediciones farmacocinéticas en roedores)

Figura 4: muestra la exposición pulmonar total tras la administración intravenosa e intranasal de ejemplos de la invención o nintedanib en ratones (consulte los resultados de las mediciones farmacocinéticas en roedores)

Descripción detallada de la invención

Los grupos alquilo pueden ser de cadena ramificada o lineal. Los grupos alquilo C₁₋₈ pueden representar, por ejemplo, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₃. Los grupos alquilo ejemplares incluyen metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo y CH₂CHMe₂. En una realización, alquilo se refiere a alquilo de cadena lineal. Alquilenos debe interpretarse de la misma manera que alquilo, salvo que es un grupo divalente.

Alcoxi, como se emplea en esta invención, significa -Oalquilo e incluye alcoxi de cadena lineal o ramificada, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi.

45 Hidroxialquilo significa alquilo con un sustituyente hidroxilo en cualquier posición. Los ejemplos incluyen hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 3-hidroxi-n-propilo y 4-hidroxi-n-butilo.

Los halógenos pueden ser adecuadamente Br, Cl o F, especialmente Cl o F, particularmente F.

50 Los ejemplos de anillos heterocíclicos alifáticos de 4 a 8 miembros que contienen uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, S y N incluyen azetidina, pirrolidina, piperidina, piperazina, morfolina, dioxano, tetrahidrofurano y tiomorfolina. Adecuadamente, el anillo heterocíclico incluye 1 o 2, especialmente 1 heteroátomo. Tales anillos pueden contener un grupo carbonilo o sulfona y los ejemplos incluyen pirrolidinona o piperidinona.

55 C₃-C₈cicloalquilo se refiere a un anillo carbocíclico alifático que contiene típicamente de 3 a 8 miembros de anillo con ramificación opcional y que contiene de 3 a 8 átomos de carbono en total. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, metilciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

60 Los anillos heterocíclicos alifáticos de 4 a 8 miembros pueden sustituirse opcionalmente. En una realización, los anillos no se sustituyen. En otra realización, el anillo tiene un sustituyente. Un sustituyente puede estar en un átomo de carbono o de nitrógeno. Los ejemplos de anillos heterocíclicos sustituidos incluyen N-metil-piperazina, N-metil-

piperidina, N-etil-piperazina, 3-(N,N-dimetilamina)-pirrolidina, N-(CH₂CH₂OH)-piperazina, 4-hidroxipiperidina, 4-ciano-piperidina, 2,6-dimetil-piperidina, N-metoxietil-piperazina, 3-(N,N-dimetilamina)-piperidina y 4-metoxipiperidina.

En una realización, se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención.

5

Los compuestos de la descripción incluyen aquellos donde el átomo especificado es un isótopo de origen natural o no natural. En una realización, el isótopo es un isótopo estable. Por tanto, los compuestos de la descripción incluyen, por ejemplo, aquellos que contienen uno o más átomos de deuterio en lugar de átomos de hidrógeno.

10 La descripción también abarca todas las formas polimórficas de los compuestos definidos en esta invención, incluidas sales de los mismos.

La descripción también abarca todos los solvatos de los compuestos definidos en esta invención. Los ejemplos de solvatos incluyen hidratos.

15

Adecuadamente, R₁ representa Me o H, especialmente Me.

Adecuadamente, R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₆cicloalquilo, halógeno o ciano, más adecuadamente H, C₁-C₄alquilo o halógeno, aún más adecuadamente H, Me o halógeno, más adecuadamente H, Me o F, especialmente H.

20

En una realización preferida, Z representa CO. En una realización alternativa, Z es SO₂.

En una realización preferida, R₃ es la fórmula (i).

25

Adecuadamente, o bien R₄ representa NR₆R₇ o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, salvo que cuando R₄ es NR₆R₇, m es 2, 3, 4 o 5 y R₅ representa H u OH salvo que cuando R₅ es OH, n es 2, 3, 4 o 5; o

30 R₅ representa NR₈R₉ o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S salvo que cuando R₅ es NR₈R₉, n es 2, 3, 4 o 5 y R₄ representa H u OH salvo que cuando R₄ es OH, m es 2, 3, 4 o 5.

Adecuadamente, X₁ representa (CH₂)_m.

35

Adecuadamente, X₁ representa (CH₂)₀, CH₂, CH(CH₃)CH₂ o (CH₂)₂, especialmente (CH₂)₀ o CH₂, preferiblemente (CH₂)₀.

Adecuadamente, R₄ representa H, N-metil-piperidina o dimetilamina, especialmente H.

40

Adecuadamente, el resto -X₁-R₄ representa H, Me, CH₂CH₃, isopropilo, 1-metil-piperidin-4-ilo o N,N-dimetilamina, especialmente H o Me, preferiblemente H.

Adecuadamente, Y₁ representa (CH₂)_n.

45

Adecuadamente, Y₁ representa (CH₂)₀, CH₂, (CH₂)₂ o (CH₂)₃, especialmente (CH₂)₂.

Adecuadamente, R₅ representa H, dimetilamina, N-metiletanolamina, N-metilpiperazina, N-metilpiperidina, 1,2,6-trimetilpiperazina, N-etilpiperazina, 3-(N,N-dimetilamina)-pirrolidina, N-(CH₂CH₂OH)-piperazina, piperidina, morfolina, 4-hidroxipiperidina, 4-ciano-piperidina, 2,6-dimetil-piperidina, N-metoxietilpiperidina, 2-metil-piperazina, N-metil-2-(N-piperazinil)acetamida, 4-(N,N-dimetilamina)-piperidina, 4-metoxipiperidina, S-dioxitimorfolina, N-piperazina-3-ona, 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano, o 3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano, 3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptanilo especialmente dimetilamina o N-metil-piperazina, preferiblemente dimetilamina.

55 Adecuadamente, R₅ no representa H cuando n representa 0.

Adecuadamente, el resto -Y₁-R₅ representa Me, -(CH₂)₂-dimetilamino, -(CH₂)₃-dimetilamino, -(CH₂)₂-(N-metil)-etanolamino, -(CH₂)₂-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(4-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(3-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₃-(4-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(1-metil)-piperidina-4-il, N-metil-piperidina-4-il, -(CH₂)₂-(4-etil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-3-(N,N-dimetilamino)-pirrolidina-1-yi, -(CH₂)₂-(4-(CH₂CH₂OH)-piperazina-1-il), -(CH₂)₂-3,4,5-trimetilpiperazina-1-il, -(CH₂)₂-piperidina-1-il, -(CH₂)₃-piperidina-1-il, -(CH₂)₂-morfolina-4-il, -(CH₂)₂-(4-hidroxi-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(4-ciano-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(2,6-dimetil-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(4-metoxietil-piperazina-1-il), -(CH₂)₂-4-(N,N-

60

dimetilamino-piperidina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-metoxi-piperidina-1-il), $-(\text{CH}_2)_3$ -(4-metoxi-piperidina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -4-(N-metilacetamido)-piperazina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-dioxi-tiomorfolina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(3-oxopiperazina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-8-il), $(\text{CH}_2)_2$ -(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-3-il), $(\text{CH}_2)_2$ -3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-il especialmente $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino o $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-metil-piperazina-1-il), más preferiblemente $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino.

Adecuadamente, la fórmula (i) representa un resto en el que: (a) $-X_1-R_4$ representa H y $-Y_1-R_5$ representa $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino, $-(\text{CH}_2)_3$ -dimetilamino, $-(\text{CH}_2)_2$ -(N-metil)-etanolamino, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metil-piperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_3$ -(4-metil)-piperazina-1-il, N-metil-piperidina-4-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -3,4,5-trimetilpiperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-etil-piperazina-N-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -3-(N,N-dimetilamino)-pirrolidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)-piperazina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_3$ -piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -morfolina-4-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-hidroxi-piperidina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -4-ciano-piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(2,6-dimetil-piperidina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metoxietil-piperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-(N,N-dimetilamino)-piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metoxi-piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_3$ -4-metoxi-piperidina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-dioxi-tiomorfolina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(3-oxopiperazina-1-il), especialmente $-X_1-R_4$ representa H y $-Y_1-R_5$ representa $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino o $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metil-piperazina-1-il, más preferiblemente $-X_1-R_4$ representa H y $-Y_1-R_5$ representa $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino; o (b) $-X_1-R_4$ representa Me y $-Y_1-R_5$ representa Me, $-(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino, $-(\text{CH}_2)_2$ -(N-metil)-etanolamino, $-(\text{CH}_2)_2$ -piperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metil-piperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(3-metil)-piperazina-1-il, $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)-piperazina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(4-(N-metilacetamido)-piperazina-1-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il), $-(\text{CH}_2)_2$ -(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-8-il), $(\text{CH}_2)_2$ -(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-3-il), $(\text{CH}_2)_2$ -3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-il, especialmente $-X_1-R_4$ representa Me y $-Y_1-R_5$ representa $(\text{CH}_2)_2$ -dimetilamino o $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metil-piperazina-1-il, más preferiblemente $-X_1-R_4$ representa Me y $-Y_1-R_5$ representa $-(\text{CH}_2)_2$ -4-metil-piperazina-1-il; o (c) $-X_1-R_4$ representa 1-metil-piperidina-4-il y $-Y_1-R_5$ representa Me; o (d) $-X_1-R_4$ representa N,N-dimetilamino y $-Y_1-R_5$ representa Me; o (e) $-X_1-R_4$ representa CH_2CH_3 y $-Y_1-R_5$ representa $(\text{CH}_2)_2$ -piperazina-1-il o (f) $-X_1-R_4$ representa isopropil y $-Y_1-R_5$ representa $(\text{CH}_2)_2$ -piperazina-1-il. El resto de fórmula (i) es representado preferiblemente por (a).

25 En una realización, R_3 es la fórmula (ii).

Adecuadamente, Y_2 representa $(\text{CH}_2)_s$.

30 Adecuadamente, s es 2, 3, o 4, más adecuadamente 2 o 3, especialmente 2.

Adecuadamente, la fórmula (ii) representa 1,2-oxazetidina.

En una realización, R_3 es la fórmula (iii).

35 Adecuadamente, Y_3 representa $(\text{CH}_2)_t$.

Adecuadamente, X_2 representa $(\text{CH}_2)_v$.

40 Adecuadamente, t es 2 y v es 2.

Adecuadamente, Q es N u O, especialmente N. Cuando Q representa N puede ser sustituido adecuadamente por metilo.

45 En una realización, la fórmula (iii) representa 5-metil-[1,2,5]-oxadiazepano.

Adecuadamente, R_6 , R_7 , R_8 , R_9 representan independientemente H, o C_1 - C_4 alquilo opcionalmente sustituido por OH, oxo, $\text{NR}_{14}\text{R}_{15}$ o -OMe.

50 Adecuadamente, R_6 y R_7 representan independientemente Me.

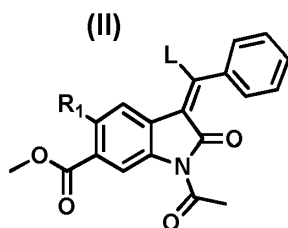
Adecuadamente, R_8 representa Me y R_9 representa Me o $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, especialmente Me.

Adecuadamente, R_{10} representa H y R_{11} representa Me.

55 Adecuadamente, R_{12} y R_{13} representan independientemente Me.

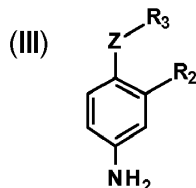
Adecuadamente, R_{14} y R_{15} se seleccionan independientemente de entre H y Me.

60 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse convenientemente mediante un procedimiento que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II), en el que L es un grupo saliente, tal como $-\text{OC}_1$ - C_4 alquilo, por ejemplo, Oetil:



o un derivado protegido del mismo con un compuesto de fórmula (III):

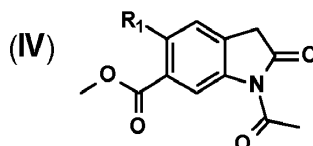
5



Típicamente, los compuestos de las fórmulas (II) y (III) pueden hacerse reaccionar en presencia de un disolvente, tal como DMF, y calentarse a alrededor de 80 °C durante aproximadamente 18 horas. Después de esta etapa, se realiza una etapa de desprotección para eliminar el grupo protector, acetilo. Para ello, la mezcla de reacción puede enfriarse a temperatura ambiente, puede añadirse un nucleófilo, tal como piperidina, y agitarse de 1 a 24 horas.

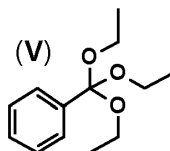
Los compuestos de fórmula (II) en la que L representa -Oetil puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IV):

15



o un derivado protegido del mismo con un compuesto de fórmula (V):

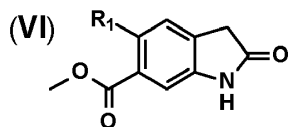
20



Típicamente, los compuestos de las fórmulas (IV) y (V) pueden hacerse reaccionar en presencia de anhídrido acético a una temperatura de alrededor de 110 °C durante aproximadamente 4 horas. Otros compuestos de fórmula (II) pueden prepararse de manera análoga.

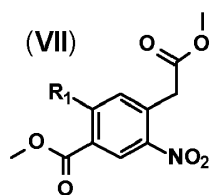
25

Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI):



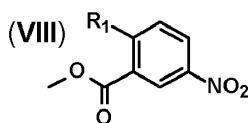
30 con anhídrido acético. Típicamente, la reacción se realiza a alrededor de 110 °C. Alternativamente, los compuestos de fórmula (II) en la que L representa -Oetil pueden prepararse directamente a partir de los compuestos de fórmula (VI) mediante tratamiento con un compuesto de fórmula (V) en presencia de anhídrido acético a una temperatura de alrededor 110 °C durante aproximadamente 4 horas.

35 Los compuestos de fórmula (VI) pueden prepararse reduciendo el grupo -NO₂ de un compuesto de fórmula (VII) a un grupo -NH₂:



seguido de una ciclización de formación de amida, que es un procedimiento bien conocido en el campo. Las condiciones de reducción pueden incluir típicamente el uso de H₂-Pd/C a temperatura ambiente, a una presión de 5 bares durante alrededor de 36 horas en un disolvente, tal como ácido acético, que es un procedimiento bien conocido en la técnica.

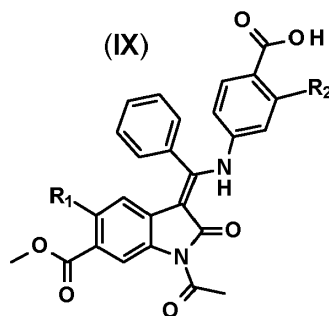
Los compuestos de fórmula (VII) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VIII):



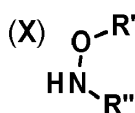
10

con metilcloroacetato. Típicamente, la reacción se produce en presencia de un disolvente orgánico polar, tal como DMF, y una base, tal como KO^tBu, en una atmósfera de nitrógeno a entre aproximadamente -20 a -10 °C.

15 Alternativamente, pueden prepararse compuestos de fórmula (Ia), que son compuestos de fórmula (I), en la que Z es CO y R₃ es la fórmula (i) o (iii), pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IX):



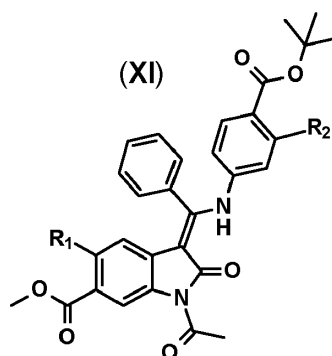
20 o un derivado protegido del mismo con un compuesto de fórmula (X):



25 en la que R' puede representar Y₁-R₅ y R'' puede representar X₁-R₄, o un derivado protegido del mismo, o R' y R'' se unen con los átomos N y O para formar el anillo heterocíclico que se elija de los ejemplos enumerados. Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente durante alrededor de 2 a 18 horas a temperatura ambiente en presencia de un agente de acoplamiento, tal como HATU, y una base, tal como base de Hünig (DIPEA), en un disolvente orgánico polar tal como DMF, aunque pueden utilizarse otros disolventes orgánicos polares. Este procedimiento puede estar seguido, cuando proceda, por desprotección.

30

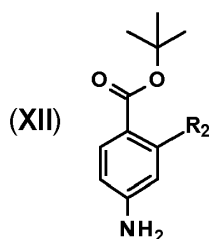
Los compuestos de fórmula (IX) pueden prepararse mediante la desprotección de un compuesto de fórmula (XI):



La desprotección puede lograrse utilizando reactivos estándar en la técnica, tales como TFA, y los compuestos típicamente se agitan a temperatura ambiente durante alrededor de 16 horas en un disolvente, tal como DCM.

5

Los compuestos de fórmula (XI) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (XII):

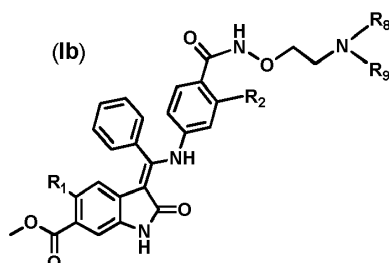


10

Los compuestos pueden hacerse reaccionar en presencia de DMF durante alrededor 18 horas a 100 °C.

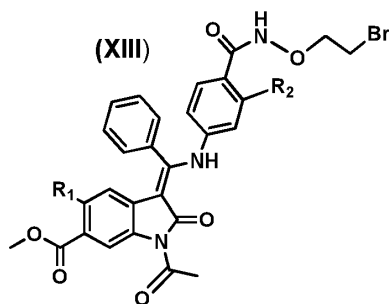
Alternativamente, los compuestos de fórmula (Ib) que son compuestos de fórmula (I) en la que R₃ es la fórmula (i) y X₁-R₄ representa H. NR₈R₉ representa NR₈R₉ como se ha definido anteriormente, o un heterociclo alifático de 4 a 8

15 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, como se ha definido anteriormente:

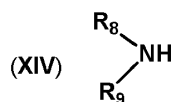


puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula: (XIII):

20

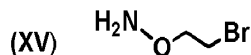


con un compuesto de fórmula (XIV):



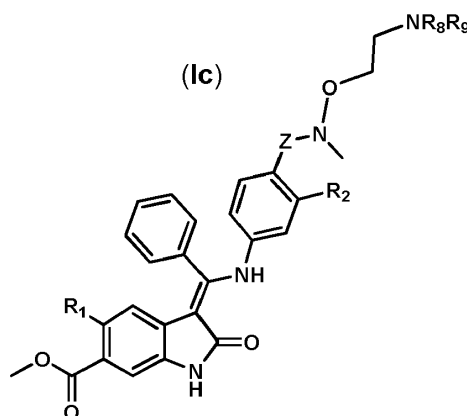
o NR_8R_9 representa un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, como se ha definido anteriormente. Las condiciones de reacción típicas pueden ser agitar la mezcla a temperatura ambiente durante alrededor de 16 horas. Este procedimiento puede estar seguido, cuando proceda, por desprotección.

Los compuestos de fórmula (XIII) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IX) con un compuesto de fórmula (XV):

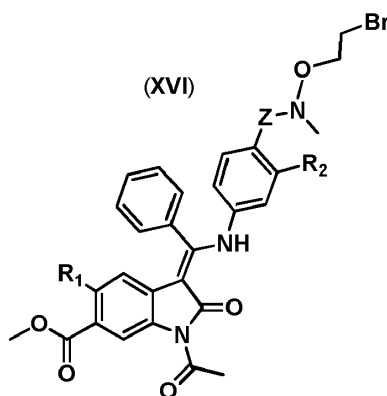


Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente en presencia de HATU, base de Hünig (DIPEA) y DMF, u otro disolvente orgánico polar.

Alternativamente, los compuestos de fórmula (Ic) que son compuestos de fórmula (I) en la que Z representa CO o SO_2 y R_3 representa la fórmula (i), $\text{X}_1\text{-R}_4$ representa Me y NR_8R_9 representa NR_8R_9 como se ha definido anteriormente, o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, como se ha definido anteriormente:

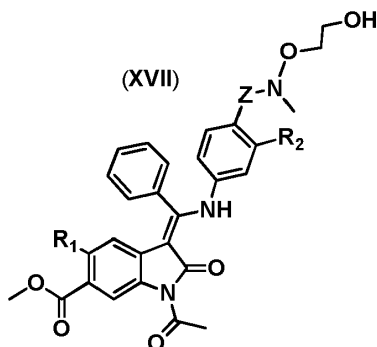


puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XVI):



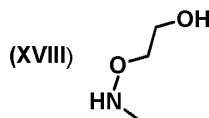
con un compuesto de fórmula (XIV). Las condiciones de reacción típicas pueden ser agitar la mezcla en un disolvente tal como DMF a aproximadamente 60 °C durante alrededor de 5 horas opcionalmente en presencia de una base tal como base de Hünig (DIPEA), seguido de una etapa de desprotección, tal como mediante tratamiento con un nucleófilo, tal como piperidina, en un disolvente, tal como DMF, a aproximadamente 60 °C durante alrededor de 18 horas.

Los compuestos de fórmula (XVI) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XVII):



5 con CBr_4 y PPh_3 en condiciones moderadas, una reacción común conocida en el campo como Reacción de Appel. Típicamente, la reacción puede agitarse durante entre 2 y 16 horas a temperatura ambiente en un disolvente, tal como DCM.

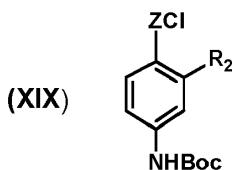
10 Los compuestos de fórmula (XVII), donde Z representa CO, pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IX) con un compuesto de fórmula (XVIII):



15 Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente en presencia de HATU, base de Hünig (DIPEA) y DMF, u otro disolvente orgánico polar. Típicamente, la reacción puede agitarse durante 2 horas a temperatura ambiente.

20 Los compuestos de fórmula (XVII), donde Z representa SO_2 , pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III) en la que Z representa SO_2 , y R_3 es la fórmula (i) donde $\text{X}_1\text{-R}_4$ representa Me y $\text{Y}_1\text{-R}_5$ representa $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente en presencia de base de Hünig (DIPEA) y DMF, u otro disolvente orgánico polar, a una temperatura tal como 80°C durante alrededor de 18 horas.

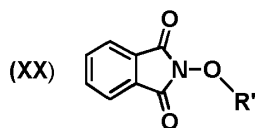
25 La síntesis de los compuestos de fórmula (III) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (X) con un compuesto de fórmula (XIX):



30 Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente en presencia de base de Hünig (DIPEA) y DMF durante alrededor de 16 horas a temperatura ambiente, seguido de una etapa de desprotección utilizando reactivos estándar en la técnica, tales como TFA.

35 Los compuestos de fórmula (III), donde R_3 es la fórmula (ii) y (iii), pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (X), donde R' y R'' se unen con los átomos N y O para formar el anillo heterocíclico que se elija de los ejemplos enumerados con un compuesto de fórmula (XIX). Estos anillos heterocíclicos y sus procedimientos de preparación son de conocimiento común en el campo.

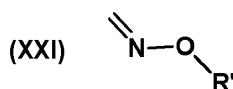
Los compuestos de fórmula (X), donde R'' es H, pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XX):



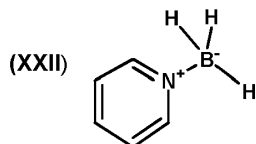
con, típicamente, hidrato de hidracina en presencia de disolventes, típicamente metanol y DCM, durante alrededor de 18 horas a temperatura ambiente.

5 Los compuestos de fórmula (XX) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de HOR' con un compuesto de 2-hidroxiisindolina-1,3-diona. Los compuestos pueden hacerse reaccionar típicamente en presencia de trifenilfosfina, un azodicarboxilato, tal como DIAD, y un disolvente polar, tal como THF. Típicamente, la reacción se agita durante 1 hora a 0 °C y a continuación, se calienta a temperatura ambiente y se agita durante alrededor de 16
10 horas.

Los compuestos de fórmula (X), donde R" es Me, pueden prepararse reduciendo un compuesto de fórmula (XXI):

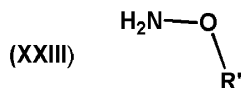


15 utilizando procedimientos estándar en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de un agente reductor, tal como un compuesto de fórmula (XXII):



20 La reacción puede producirse típicamente en presencia de un disolvente polar, tal como THF, un ácido, tal como ácido clorhídrico, y un disolvente apótico, tal como dioxano.

25 Los compuestos de fórmula (XXI) pueden prepararse mediante la condensación de un compuesto de fórmula (XXIII):



30 con, por ejemplo, formaldehído. La condensación puede producirse típicamente mediante el uso de paraformaldehído como fuente de formaldehído en presencia de un disolvente, tal como etanol, y calentarse bajo reflujo durante alrededor de 18 horas.

Los productos intermedios novedosos, incluidos los compuestos de fórmula (II), (VII), (IX), (XI) (XIII), (XVI) y (XVII) donde R₁ es Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me, y de fórmula (VI), donde R₁ es Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me, y sales de los mismos se reivindican como un aspecto de la invención.

35 Los compuestos de fórmulas (V), (VIII), (X), (XII), (XIV), (XV), (XVIII), (XIX), (XXII) y (XXIII) pueden prepararse mediante procedimientos conocidos o procedimientos análogos a los que se describen en esta solicitud.

40 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse o emplearse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, incluidas las sales de adición de ácido no tóxico terapéuticamente activas que pueden formar los compuestos de fórmula (I). Estas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente tratando la forma de base libre con tales ácidos apropiados en un solvente o una mezcla de solventes adecuados. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, etanosulfónico, maleico, malónico, L-tartárico, fumárico, cítrico, succínico, acético, trifenil acético, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, 1-hidroxi-2-naftoico, bromhídrico, metanosulfónico, tartárico,
45 palmítico, isetiónico, pamoico, fórmico, cinámico benzoico, ascórbico, galáctico, láctico, málico, oxálico, para-toluenosulfónico, bencenosulfónico, propiónico, furoico, fosfónico y glutárico. Recíprocamente, dichas formas salinas se pueden convertir mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso como producto farmacéutico.

50

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la invención opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Los diluyentes y vehículos pueden incluir los adecuados para la administración parenteral, oral, tópica, incluida la inhalación por la boca a los pulmones o la inhalación por la nariz, la administración mucosa y rectal, y pueden ser diferentes según la vía de administración.

En una realización, pueden prepararse composiciones, por ejemplo, para su administración por vía parenteral, por ejemplo, por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intraarticular o periarticular, en particular en forma de soluciones o suspensiones líquidas; para su administración por vía oral, particularmente en forma de comprimidos, cápsulas, polvo, gránulos, dispersiones sólidas o en forma de soluciones o suspensiones líquidas, incluidas las nanosuspensiones; para la inhalación a los pulmones o a la nariz, por ejemplo administración pulmonar o intranasal, particularmente en forma de polvos secos, soluciones, suspensiones, incluidas las nanosuspensiones para nebulización, aerosoles nasales o gotas que comprenden soluciones o suspensiones o solución, aerosoles presurizados o no presurizados; para la administración tópica o transdérmica, por ejemplo, en forma de cremas, aerosoles, espumas, geles, ungüentos, líquidos, parches; para la administración mucosa, por ejemplo, a la mucosa bucal, sublingual o vaginal, y para la administración rectal, por ejemplo, en forma de espuma o supositorio.

Las composiciones se pueden administrar convenientemente en forma farmacéutica unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17a edición, Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985). Las composiciones también se pueden administrar convenientemente en forma farmacéutica unitaria múltiple. Las formulaciones para la administración parenteral pueden contener como excipientes agua estéril o solución salina, tampones, agentes ajustadores de la tonicidad, conservantes, antioxidantes, agentes ajustadores de la viscosidad, alquilenglicoles tales como propilenglicol, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados.

Las composiciones adecuadas para la administración por vía oral pueden comprender uno o más vehículos y/o excipientes fisiológicamente compatibles y pueden estar en forma sólida o líquida. Los comprimidos y cápsulas pueden prepararse con agentes aglutinantes, por ejemplo, jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, celulosa o polivinilpirrolidona; rellenos, tales como lactosa, sacarosa, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricantes, tales como estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; y agentes tensioactivos, tales como lauril sulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo, jarabe de sorbitol, celulosa de metilo, jarabe de azúcar, gelatina, carboximetilcelulosa o grasas comestibles; agentes emulsionantes y surfactantes tales como la lecitina o la acacia; aceites vegetales como aceite de almendra, aceite de coco, aceite de hígado de bacalao o aceite de cacahuete; conservantes tales como butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT). Las composiciones líquidas pueden encapsularse, por ejemplo, en gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria.

Las formas sólidas de dosificación oral incluyen comprimidos, cápsulas de cubierta dura de dos piezas y cápsulas de gelatina elástica blanda (SEG). Tales cápsulas de dos piezas de cubierta dura pueden estar hechas, por ejemplo, de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

Una formulación de cubierta seca típicamente comprende una concentración de gelatina de alrededor del 40%-60%, una concentración de plastificante de alrededor del 20%-30% (tal como glicerina, sorbitol o propilenglicol) y una concentración de agua de alrededor del 30%-40%. También pueden estar presentes otros materiales tales como conservantes, tintes, opacificantes y sabores. El material de relleno líquido comprende un fármaco sólido que se ha disuelto, solubilizado o dispersado (con agentes de suspensión tales como cera de abejas, aceite de ricino hidrogenado o polietilenglicol 4000) o un fármaco líquido en vehículos o combinaciones de vehículos tales como aceite mineral, aceites vegetales, triglicéridos, glicoles, polioles y agentes tensoactivos.

Las fórmulas para la administración nasal pueden ser polvos y pueden contener excipientes, por ejemplo, lactosa o dextrano, o pueden ser soluciones acuosas u oleosas para su uso en forma de gotas nasales o aerosoles medidos. Las formulaciones para administración nasal también pueden ser en forma de suspensiones acuosas o soluciones o suspensiones no acuosas presurizadas. Para la administración bucal, los excipientes típicos incluyen azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio y almidón pregelatinizado.

Adecuadamente, el compuesto de fórmula (I) se administra tópicamente al pulmón. Por tanto, en una realización se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la descripción opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos tópicamente aceptables. La administración tópica al pulmón se puede conseguir mediante el uso de una formulación no presurizada tal como una solución o suspensión acuosa. Estas formulaciones se pueden administrar por medio de un nebulizador, por ejemplo, uno que puede ser manual y

portátil o para uso doméstico u hospitalario (es decir, no portátil). La formulación puede comprender excipientes tales como agua, tampones, agentes de ajuste de la tonicidad, agentes de ajuste del pH, agentes tensioactivos, conservantes, agentes de suspensión, agentes de voluminizantes y cosolventes. Las formulaciones de líquido de suspensión y aerosol (ya sea presurizado o no presurizado) contendrán típicamente el compuesto de la invención en forma finamente dividida adecuada para su deposición en el pulmón, por ejemplo, con un D_{50} de 0,5 a 10 μm , por ejemplo, alrededor de 1 a 5 μm . Los polvos en forma finamente dividida pueden prepararse mediante un procedimiento de micronización o de trituración, mediante secado por pulverización, mediante congelación por pulverización o mediante trituración en mojado seguida de secado por pulverización. La micronización se puede realizar usando un molino de chorro tal como los fabricados por Hosokawa Alpine. La distribución del tamaño de partícula resultante se puede medir usando difracción láser (por ejemplo, con un instrumento Mastersizer 2000S o Mastersizer 3000 de Malvern). Las distribuciones del tamaño de partícula se pueden representar usando los valores D_{10} , D_{50} y D_{90} . El valor de mediana D_{50} de las distribuciones del tamaño de partícula se define como el tamaño de partícula que divide la distribución por la mitad. La medición obtenida a partir de difracción láser se describe con mayor exactitud como una distribución de volumen y, por consiguiente, el valor D_{50} obtenido usando este procedimiento se denomina más convenientemente valor DV_{50} (mediana para una distribución de volumen). Como se emplea en esta invención, los valores Dv se refieren a distribuciones del tamaño de partícula medidas usando difracción láser. De manera similar, los valores D_{10} y D_{90} , usados en el contexto de la difracción láser, se toman para indicar los valores DV_{10} y DV_{90} y se refieren al tamaño de partícula mediante el cual el 10 % de la distribución se encuentra por debajo del valor D_{10} y el 90% de la distribución se encuentra por debajo del valor D_{90} , respectivamente. En otra realización, las partículas compuestas del compuesto de la descripción y los excipientes para su uso en la nebulización de una formulación en suspensión pueden formarse mediante cotrituración y/o cosecado por pulverización conjuntos del compuesto y los excipientes, donde las partículas compuestas que comprenden tanto los activos como los excipientes tienen un D_{50} de 1-10 μm . Las formulaciones de suspensión acuosa para su administración al pulmón también podrían comprender nanosuspensiones o suspensiones de partículas compuestas que contengan nanopartículas.

La administración tópica al pulmón también se puede conseguir mediante el uso de una formulación de aerosol presurizado. Las formulaciones de aerosol comprenden típicamente el principio activo suspendido o disuelto en un propelente de aerosol adecuado, tal como un clorofluorocarbono (CFC) o un hidrofluorocarbono (HFC). Los propelentes de CFC adecuados incluyen tricloromonofluorometano (propelente 11), diclorotetrafluorometano (propelente 114) y diclorodifluorometano (propelente 12). Los propelentes de HFC adecuados incluyen tetrafluoroetano (HFC-134a) y heptafluoropropano (HFC-227). El propelente comprende típicamente 40 %-99,5 %, por ejemplo, 40 %-90 % en peso de la composición de inhalación total. La formulación puede comprender excipientes que incluyen cosolventes (por ejemplo, etanol) y tensioactivos o estabilizadores (por ejemplo, lecitina, trioleato de sorbitán y similares). Otros excipientes posibles incluyen polietilenglicol, polivinilpirrolidona, glicerina. Las formulaciones de aerosol se envasan en recipientes metálicos herméticos y se administra una dosis adecuada por medio de una válvula dosificadora (p. ej., como las suministradas por Bepak, Aptar o 3M o alternativamente por Coster o Vari). Las formulaciones de suspensión presurizada para su administración al pulmón también podrían comprender nanosuspensiones o suspensiones de partículas compuestas que contengan nanopartículas.

La administración tópica al pulmón también se puede conseguir mediante el uso de una formulación de polvo seco. Una formulación de polvo seco contendrá el compuesto de la descripción en forma finamente dividida, típicamente con un D_{50} de 0,5 a 10 μm , por ejemplo, alrededor de 1 a 5 μm . Los polvos en forma finamente dividida pueden prepararse mediante un procedimiento de micronización o de trituración, mediante secado por pulverización, mediante congelación por pulverización o mediante trituración en mojado seguida de secado por pulverización. La micronización se puede realizar usando un molino de chorro tal como los fabricados por Hosokawa Alpine. La distribución del tamaño de partícula resultante se puede medir usando difracción láser (por ejemplo, con un instrumento Mastersizer 2000S o Mastersizer 3000 de Malvern). La formulación contendrá típicamente uno o más diluyentes típicamente aceptables tal como lactosa, glucosa, trehalosa o manitol (preferiblemente lactosa), por lo general de tamaño de partícula comparativamente grande, por ejemplo, un D_{50} de 15 a 250 μm . En otra realización, las partículas compuestas del compuesto de la descripción y los excipientes también pueden formarse mediante cotrituración y/o cosecado por pulverización conjuntos del compuesto y los excipientes, donde las partículas compuestas que comprenden tanto los activos como los excipientes tienen un D_{50} de 1-10 μm . Como se emplea en esta invención, el término "lactosa" se refiere a un componente que contiene lactosa, lo que incluye α -lactosa monohidratada, β -lactosa monohidratada, α -lactosa anhidra, β -lactosa anhidra y lactosa amorfa. Los componentes de lactosa se pueden procesar mediante micronización, tamizado, molienda, compresión, aglomeración o secado por pulverización. También se incluyen formas de lactosa comercialmente disponibles en diversas formas, por ejemplo, los productos Lactohale® (DFE Pharma), InhaLac® (Meggle), Pharmatose® (DFE Pharma) y Respitose® (DFE Pharma). En una realización, el componente de lactosa se selecciona del grupo que consiste en α -lactosa monohidratada, α -lactosa anhidra y lactosa amorfa. Preferiblemente, la lactosa es α -lactosa monohidratada.

Las formulaciones de polvo seco también pueden contener otros excipientes tales como leucina, estearato de sodio, estearato de calcio o estearato de magnesio. Las partículas de polvo seco podrían ser partículas compuestas y podrían

comprender nanopartículas en una matriz compuesta.

Una formulación de polvo seco se administra típicamente usando un dispositivo inhalador de polvo seco (DPI). Este puede ser un dispositivo de dosis unitaria donde la formulación se presenta en unidades individuales, ya sea en forma de cápsulas o de ampollas, o en un dispositivo de dosis múltiples donde se contiene más de una dosis de la formulación en un dispositivo, ya sea en un depósito a granel o en múltiples contenedores dentro de un dispositivo (por ejemplo, múltiples ampollas o bolsillos). Los ejemplos de inhaladores de polvo seco incluyen SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS, ELLIPTA, CLICKHALER, ECLIPSE, ROTAHALER, HANDIHALER, AEROLISER, CYCLOHALER, MONODOSE, BREEZHALER/NEOHALER, FLOWCAPS, TWINCAPS, X-CAPS, TWISTER, TURBOSPIN, ELPENHALER, TURBUHALER, MIATHALER, NEXTHaler, TWISTHALER, NOVOLIZER, GENUAIR, SKYEHALER, ORIEL dry powder inhaler, MICRODOSE, ACCUHALER, PULVINAL, EASYHALER, ULTRAHALER, TAIFUN, PULMOJET, OMNIHALER, GYROHALER, TAPER, CONIX, XCELOVAIR y PROHALER.

Se espera que los compuestos de la invención sean útiles en el tratamiento de enfermedades fibróticas, tales como fibrosis pulmonar, y enfermedades pulmonares con un componente fibrótico, por ejemplo, seleccionadas de entre FPI, neumonía intersticial de células gigantes, sarcoidosis, fibrosis quística, síndrome de dificultad respiratoria, fibrosis pulmonar inducida por fármacos, granulomatosis, silicosis, asbestosis, esclerodermia sistémica, cirrosis hepática inducida por virus seleccionada de entre cirrosis hepática inducida por hepatitis C, o enfermedades de la piel con un componente fibrótico, por ejemplo, seleccionadas de entre esclerodermia, sarcoidosis y lupus eritematoso sistémico, y especialmente FPI. Más generalmente, se espera que los compuestos de la invención sean útiles en el tratamiento de enfermedades pulmonares intersticiales. Además, se espera que los compuestos de la invención sean útiles en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la hiperproliferación de células, por ejemplo, cáncer, y donde los compuestos se administran por inhalación, en particular, cáncer de pulmón. Además, los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios, incluida EPOC (incluidos bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis especialmente asma, bronquitis crónica y EPOC.

Se espera que los compuestos de la invención también sean útiles en el tratamiento de otras enfermedades fibróticas, tales como fibrosis pulmonar asociada a la artritis reumatoide, síndrome de dificultad respiratoria, incluido síndrome de dificultad respiratoria aguda, lesión pulmonar aguda, fibrosis pulmonar o neumonitis inducida por radiación, neumonitis de hipersensibilidad crónica, esclerosis sistémica, síndrome de Sjogren, enfermedades pulmonares intersticiales, hipertensión arterial pulmonar (HAP), incluido el componente vascular de la HAP, o enfermedades de la piel con un componente fibrótico, por ejemplo, seleccionadas de entre cicatrices hipertróficas y queloides, o enfermedades de los ojos en las que la fibrosis sea un componente, incluidos glaucoma, degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético, enfermedad del ojo seco y retinopatía diabética, o fibrosis intestinal, por ejemplo, asociada a la enfermedad inflamatoria intestinal.

Además, se espera que los compuestos de la invención sean útiles en la prevención de enfermedades caracterizadas por la hiperproliferación de células, por ejemplo, cáncer, por ejemplo, donde los compuestos se administran por inhalación, en particular, cáncer de pulmón.

La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de una o más de las enfermedades anteriormente mencionadas. La invención también proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las enfermedades anteriormente mencionadas.

Con la palabra "tratamiento" se pretende abarcar tanto la profilaxis como el tratamiento terapéutico.

Los compuestos de la invención pueden administrarse una, dos o tres veces al día, especialmente una o dos veces al día. La cantidad de dosis adecuada puede determinarse en función de la gravedad de la enfermedad y la talla del sujeto. Las cantidades de dosis típicas están en el intervalo de 0,01 mg a 100 mg, por ejemplo, de 0,1 mg a 10 mg, por ejemplo, de 0,25 mg a 5 mg por dosis humana para su administración una, dos o tres veces al día, especialmente una o dos veces al día.

El compuesto de la descripción también puede administrarse en combinación con uno o más ingredientes activos, por ejemplo, ingredientes activos adecuados para el tratamiento de las enfermedades anteriormente mencionadas. Por ejemplo, los posibles ingredientes activos incluyen nintedanib o pirfenidona (conocidos para el tratamiento de la FPI). Otros ingredientes activos para su uso en combinación incluyen sustancias con actividad secretolítica, broncolítica y/o antiinflamatoria, tales como agentes anticolinérgicos, miméticos beta-2, esteroides, inhibidores PDE-IV, inhibidores de la quinasa p38 MAP, inhibidores MK2, inhibidores de la galectina, antagonistas NK₁, antagonistas LTD₄, inhibidores EGFR, Inhibidores del VEGF, inhibidores del PDGF, inhibidores del FGF, inhibidores del TGFbeta, antagonistas del LPA1, inhibidores del LOXL2, inhibidores del CTGF, pentoxifilina, N-acetilcisteína, agentes anti-IL13, agentes anti-IL4, Alphavβ6 inhibidores de la integrina, inhibidores del IGF, inhibidores del PI3K, inhibidores del mTOR, inhibidores del

JNK, pentraxina2 y antagonistas de la endotelina.

Otros ingredientes activos para su uso en combinación incluyen sustancias con actividad antifibrótica, tales como inhibidores de PDE-III, agentes combinados anti-IL4/13, inhibidores PI3k/mTOR combinados, inhibidores de autotaxina, antagonistas P2X3, antagonistas CTGF, antagonistas 5-LO, antagonistas de leucotrieno e inhibidores ROCK.

En una realización, la combinación de ingredientes activos se coformula.

10 En una realización, la combinación de ingredientes activos se administra secuencial o simultáneamente.

En una realización, los compuestos de la invención se administran por inhalación y el resto de posibles ingredientes activos se administran por vía oral o parenteral.

15 En una realización, se proporciona un producto de combinación que comprende:

- (A) el compuesto de la invención; y
- (B) un ingrediente activo adicional (como se mencionó anteriormente)

20 donde cada uno de los componentes (A) y (B) se formula en mezcla con un diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s). Opcionalmente, la combinación puede comprender otros excipientes pertinentes.

En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para su uso como medicamento para su administración en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales (como se mencionó anteriormente).

25

Los compuestos de la invención se espera que tengan una o más de las siguientes propiedades ventajosas:

- Buena actividad inhibitoria de las quinasas seleccionadas de entre VEGFR (por ejemplo, VEGFR1 y VEGFR2), FGFR y PDGFR;

30 - Buena actividad antifibrosis, por ejemplo, determinada en modelos *in vivo* (por ejemplo, modelo de fibrosis de bleomicina) cuando se administra por vía tópica al pulmón;

- Propiedades físicas y químicas adecuadas y dosis bajas para un medicamento, en particular, para uno destinado a su administración por vía tópica al pulmón;

- Buen tiempo de residencia en el pulmón o duración de la acción cuando se administra tópicamente al pulmón;

35 - Baja permeabilidad en el ensayo de permeabilidad PAMPA;

- Buena duración de la acción, por ejemplo, medida por la inhibición de la fosforilación inducida por BDGFR β en células fibroblásticas de pulmón fetal humano;

- Buena seguridad y tolerabilidad cuando se administra por vía tópica al pulmón;

- Baja biodisponibilidad oral.

40

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Las abreviaturas usadas en esta invención se definen a continuación (**Tabla 1**). Cualquier abreviatura no definida está destinada a expresar su significado generalmente aceptado.

45

Tabla 1: Abreviaturas

AcOH	ácido acético glacial
ac.	acuosa
BAL	lavado broncoalveolar
br	amplia
BEH	híbrido con puente de etileno
Boc	<i>terc</i> -butoxicarbonilo
CSH	híbrido de superficie cargada
conc.	concentrado
d	doblete
δ	desplazamiento químico
DCM	diclorometano
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo

DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
(ES ⁺)	ionización por electrospray, modo positivo
(ES ⁻)	ionización por electrospray, modo negativo
Et	etilo
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	hora(s)
HATU	1-[bis(dimetilamino)metileno]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio 3-oxid hexafluorofosfato
base de Hünig	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
M	molar
m	multiplete
(M+H) ⁺	ion molecular protonado
(M-H) ⁻	ion molecular desprotonado
Me	metil
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
MHz	megahercio
min	minuto(s)
m/z	relación masa/carga
RMN	(espectroscopía de) resonancia magnética nuclear
p	quinteto
Ph	fenilo
Py	piridina
q	cuarteto
TA	temperatura ambiente
CLAR	cromatografía líquida de alto rendimiento
s	singlete
sat.	saturado(a)
SAX	intercambio de aniones con soporte sólido (resina)
SCX	intercambio de cationes con soporte sólido (resina)
t	triplete
^t Bu	<i>tert</i> -butilo
THF	tetrahidrofurano
TFA	ácido trifluoroacético
UV	ultravioleta
wt	peso

Ejemplos Química

5 Procedimientos generales

Todos los materiales de partida y solventes se obtuvieron indistintamente de fuentes comerciales o se prepararon según la cita bibliográfica. A menos que se indique de otro modo, se agitaron todas las reacciones. Las soluciones orgánicas se secaron rutinariamente sobre sulfato de magnesio anhidro. Las hidrogenaciones se realizaron en un reactor de flujo H-Cube de Thales en las condiciones que se indican o a presión en un autoclave de gas (bomba).

La cromatografía en columna se realizó en cartuchos de sílice precargados (malla 230-400, 40-63 μm) usando la cantidad indicada. El SCX se compró a Supelco y se trató con ácido clorhídrico 1 M antes de su uso. A menos que se

indique lo contrario, la mezcla de reacción a purificar se diluyó primero con MeOH y se hizo ácida con unas pocas gotas de AcOH. Esta solución se introdujo directamente en el SCX y se lavó con MeOH. A continuación, el material deseado se eludió lavándolo con un 1% de NH₃ en MeOH.

5 Cromatografía líquida de alta resolución preparativa de fase reversa

Realizada usando detección UV a 215 y 254 nm con una columna X-Select Prep-C18, 5 µm, 19x50 mm de Waters eluyendo con un gradiente de H₂O-MeCN que contenía 0,1 % v/v de ácido fórmico a lo largo de 10 min (**Método A**), o una columna X-Bridge Prep-C18, 5 µm, 19x50 mm de Waters eluyendo con un gradiente de H₂O-MeCN que contenía 0,1 % de bicarbonato de amonio a lo largo de 10 min (**Método B**).

Procedimientos analíticos

Cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa

15

Método 1: XSelect CSH C18 de Waters, 2,5 µm (4,6 x 30 mm) a 40°C; caudal 2,5-4,5 mL min⁻¹ eluido con un gradiente de H₂O-MeCN que contenía 0,1 % v/v de ácido fórmico a lo largo de 4 min usando detección de UV a 254 y 215 nm. Información de gradiente: 0-3,00 min, aumentado de 95 % de H₂O-5 % de MeCN a 5 % de H₂O-95 % de MeCN; 3,00-3,01 min, mantenido a 5 % de H₂O-95 % de MeCN, caudal aumentado a 4,5 mL min⁻¹; 3,01-3,50 min, mantenido a 5 % de H₂O-95 % de MeCN; 3,50-3,60 min, devuelto a 95 % de H₂O-5 % de MeCN, caudal reducido a 3,50 mL min⁻¹; 3,60-3,90 min, mantenido a 95 % de H₂O-5 % de MeCN; 3,90-4,00 min, mantenido a 95 % de H₂O-5 % de MeCN, caudal reducido a 2,5 mL min⁻¹.

Método 2: XBridge BEH C18 de Waters, 2,5 µm (4,6 x 30 mm) a 40°C; caudal 2,5-4,5 mL min⁻¹ eluido con un gradiente de H₂O-MeCN que contenía 10 mM de bicarbonato de amonio a lo largo de 4 min usando detección de UV a 254 nm. Información de gradiente: 0-3,00 min, aumentado de 95 % de H₂O-5 % de MeCN a 5 % de H₂O-95 % de MeCN; 3,00-3,01 min, mantenido a 5 % de H₂O-95 % de MeCN, caudal aumentado a 4,5 mL min⁻¹; 3,01-3,50 min, mantenido a 5 % de H₂O-95 % de MeCN; 3,50-3,60 min, devuelto a 95 % de H₂O-5 % de MeCN, caudal reducido a 3,50 mL min⁻¹; 3,60-3,90 min, mantenido a 95 % de H₂O-5 % de MeCN; 3,90-4,00 min, mantenido a 95 % de H₂O-5 % de MeCN, caudal reducido a 2,5 mL min⁻¹.

Espectroscopia de RMN ¹H

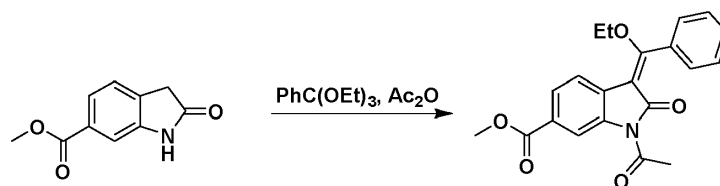
Los espectros de RMN ¹H se adquirieron en un espectrómetro Avance III de Bruker a 400 MHz usando disolvente residual no deuterado como referencia y, a menos que se especifique de otro modo, se realizaron en DMSO-d₆.

Todos los nombres químicos se han generado usando un ENotebook 12.0 de CambridgeSoft.

Ejemplo 1: (Z)-metil 3-(((4-(metoximetil)carbamoil)fenil)amino) (fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato

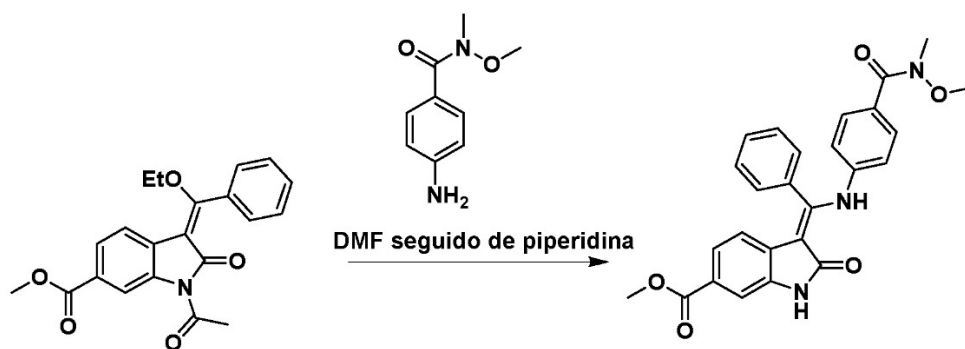
40

Producto intermedio A: (E)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



A una solución agitada de metil 2-oxoindolina-6-carboxilato (1,00 g, 5,23 mmol) en anhídrido acético (10,9 mL, 115 mmol) se añadió (trietoximetil)benzeno (3,55 mL, 15,7 mmol) y la mezcla se agitó a 110 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se recolectó mediante filtración. El precipitado se lavó con hexanos (100 mL) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo (E)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido beige (1,66 g, 82%); T_a 2,61 min (Método 1); m/z 366 (M+H)⁺ (ES⁺).

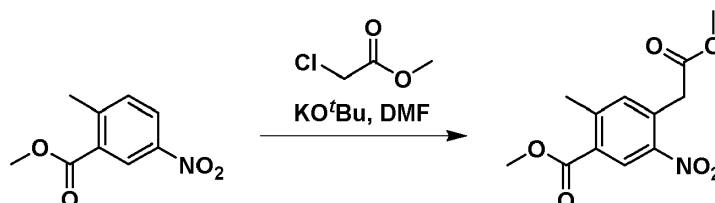
(Z)-metil 3-(((4-(metoximetil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



Se calentó una mezcla de 4-amino-*N*-metoxi-*N*-metilbenzamida (32,6 mg, 0,181 mmol) y (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio A) (60 mg, 0,16 mmol) en DMF (1 mL) a 80 °C durante 18 h y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadió piperidina (45,0 µl, 0,455 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se dividió entre DCM (25 mL) y solución saturada de NaHCO₃ (25 mL) y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera (25 mL) y a continuación, se concentró a presión reducida. El producto bruto así obtenido se purificó mediante HPLC preparatoria (Método A, 30-50% MeCN en agua) para obtener el compuesto del título (*Z*)-metil 3-(((4-(metoxi(metil)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (21 mg, 28%); T^a 2,14 min (Método 1); m/z 458 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 3,19 (3H, s), 3,48 (3H, s), 3,77 (3H, s), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,36-7,45 (3H, superponiéndose sobre m), 7,53 (2H, m), 7,56-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,01 (1H, s), 12,29 (1H, s).

15 **Ejemplo 2: (*Z*)-metil 5-metil-3-(((4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato**

Producto intermedio B: metil 4-(2-metoxi-2-oxoetil)-2-metil-5-nitrobenzoato



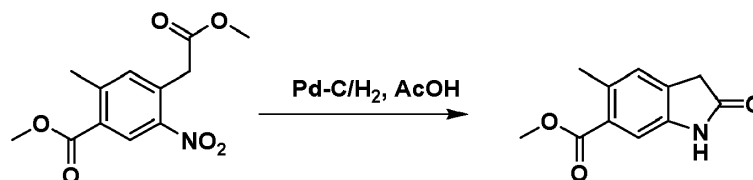
20

A una solución agitada de *tert*-butilato de potasio (35,9 g, 320 mmol) en DMF (350 mL), bajo una atmósfera de nitrógeno a -20 °C, se añadió una solución de metil 2-metil-5-nitrobenzoato (25,0 g, 128 mmol) y metil 2-cloroacetato (16,9 mL, 192 mmol) en DMF (300 mL) gota a gota durante 40 minutos. La mezcla de reacción se calentó a -10 °C durante 2 h y a continuación, se vertió en una lechada de HCl y hielo (900 g de hielo, 500 mL 35 % en peso de HCl). La mezcla se extrajo con DCM (2 × 600 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 400 mL) y a continuación, se evaporaron a presión reducida. El producto bruto así obtenido se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 330 g, 0-10% de EtOAc en DCM, elución en gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo metil 4-(2-metoxi-2-oxoetil)-2-metil-5-nitrobenzoato de metilo como un jarabe de color naranja (31,0 g, 89%); T^a 2,06 min (Método 1); m/z 266 (M-H)⁻ (ES⁻); RMN ¹H δ: 2,61 (3H, s), 3,62 (3H, s), 3,88 (3H, s), 4,12 (2H, s), 7,59 (1H, s), 8,51 (1H, s).

25

30

Producto intermediario C: metil 5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

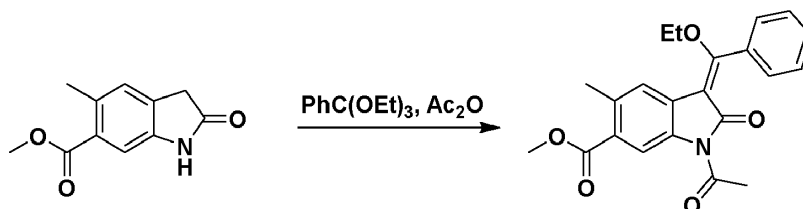


35

A una solución de metil 4-(2-metoxi-2-oxoetil)-2-metil-5-nitrobenzoato (Producto intermedio B) (23,0 g, 86,0 mmol) en ácido acético (301 mL, 5,25 mol) se añadió paladio sobre carbono [5 % en peso, 58% agua, tipo 87L] (3,30 g, 1,55 mmol). La mezcla se hidrogenó a temperatura ambiente a una atmósfera de H₂ (5 bar) durante 36 h y a continuación,

se filtró a través de una almohadilla de celita. La torta de filtro se lavó con EtOAc (500 mL) y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo bruto se disolvió en MeOH de reflujo caliente (200 mL) y la mezcla se enfrió a TA. El sólido resultante se filtró, aclarando con MeOH (200 ml) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo de metil 5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un polvo marrón (7,00 g, 39%); T^a 1,48 min (Método 1); m/z 206 5 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,45 (3H, s), 3,32 (2H, s), 3,81 (3H, s), 7,17 (1H, s), 7,22 (1H, s), 10,43 (1H, s).

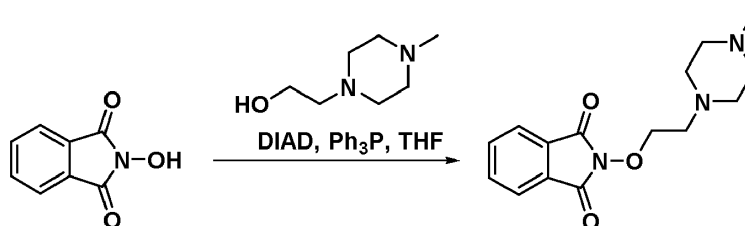
Producto intermedio D: (E)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato



10

A una solución agitada metil de metil 5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio C) (5,00 g, 24,4 mmol) en anhídrido acético (50,6 mL, 536 mmol) se añadió (trietoximetil)benzeno (22,1 mL, 97,0 mmol) y la mezcla se agitó a 110 °C durante 3 h. Posteriormente, se continuó la agitación a TA durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se trituró con MeOH (50 mL). El sólido resultante se filtró, aclarando con MeOH (50 ml) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo (E)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un polvo amarillo (4,50 g, 48%); T^a 2,70 min (Método 1); m/z 380 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: t 1,35 (3H, s), 2,42 (3H, s), 2,58 (3H, s), 3,84 (3H, s), 4,01 (2H, q), 7,45-7,62 (5H, superponiéndose sobre m), 7,90 (1H, s), 8,64 (1H, s).

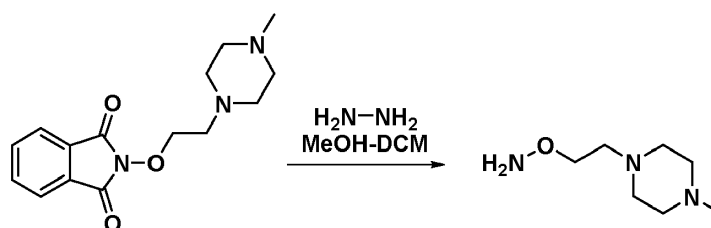
20 Producto intermedio E: 2-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)isoindolina-1,3-diona



A una solución de 2-hidroxiisoindolina-1,3-diona (2,04 g, 12,5 mmol) y trifetilfosfina (3,27 g, 12,5 mmol) en THF (40 mL) a 0 °C se añadió 2-(4-metilpiperazina-1-il)etanol (1,50 mL, 10,4 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos antes de añadir DIAD (2,43 mL, 12,5 mmol) gota a gota. La reacción se agitó durante otros 30 min a 0 °C antes de calentarla a temperatura ambiente y agitarla durante 16 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se volvió a disolver el residuo en EtOAc (75 mL). La capa orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 50 mL) y a continuación, se secó mediante Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida a aproximadamente 30 mL. La capa orgánica fue enfriada a 0 °C y se añadió una solución acuosa de HCl 1M (30 mL). Una vez completada la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 20 min. Se separaron las capas y la capa acuosa se lavó con Et₂O (2 x 30 mL). Después de enfriarse a 0 °C, la capa acuosa se basificó mediante la adición lenta de una solución saturada de NaHCO₃ antes de extraerla con CHCl₃ (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo 2-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)isoindolina-1,3-diona como un sólido beige (1,96 g, 63%); RMN ¹H δ: 1,84-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 1,98 (3H, s), 2,65 (2H, t), 4,24 (2H, t), 7,85-7,87 (4H, superponiéndose sobre m).

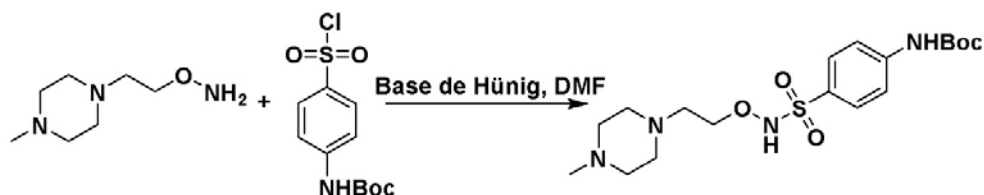
Producto intermedio F: O-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina

40



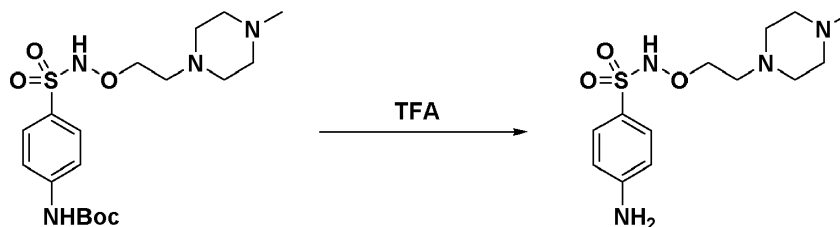
A una solución de 2-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)isoindolina-1,3-diona (Producto intermedio E) (1,88 g, 6,50 mmol) en MeOH/DCM (2:1, 15 mL) se añadió una solución acuosa de hidracina al 25% (2,45 mL, 19,5 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 18 h y a continuación, se diluyó con Et₂O (100 ml). Se eliminó el precipitado mediante filtración y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se volvió a disolver el residuo en DCM (30 mL) y se secó sobre Na₂SO₄. Se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo *O*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina como un aceite de color amarillo claro (0,902 g, 83%); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,18-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 2,43 (2H, t), 3,60 (2H, t), 5,96 (2H, s).

10 **Producto intermedio G: *tert*-butilo (4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)carbamato**



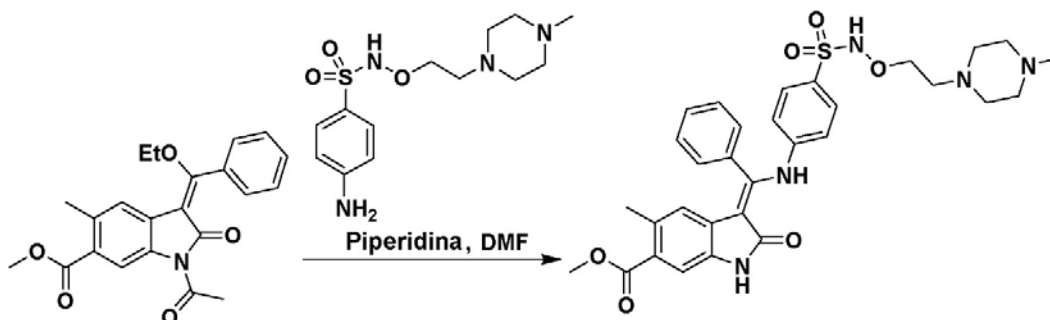
A una suspensión de *O*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina (Producto intermedio F) (464 mg, 2,91 mmol) en DMF (15 mL) se añadió base de Hünig (1,05 mL, 6,00 mmol) seguida de *tert*-butilo (4-(clorosulfonyl)fenil)carbamato (500 mg, 1,71 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante la noche. Se enfrió la mezcla y se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida. Se volvió a disolver el residuo en MeOH (50 mL) y se filtró a través de una columna SCX (5 g), lavando con MeOH (75 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (75 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo *tert*-butilo (4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)carbamato como una goma clara incolora (552 mg, 70%); T_a 1,77 min (Método 1); m/z 415 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,49 (9H, s), 2,12 (3H, s), 2,16-2,46 (10H, superponiéndose sobre m), 3,93 (2H, t), 7,64 (2H, m), 7,74 (2H, m), 9,87 (1H, s), 10,19 (1H, br s).

25 **Producto intermedio H: 4-Amino-*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)bencenosulfonamida, sal de di-trifluoroacetato**



A una solución de *tert*-butilo (4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)carbamato (Producto intermedio G) (334 mg, 0,806 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TFA (1 mL). La mezcla se agitó a TA durante 4 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener 4-amino-*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)bencenosulfonamida, sal de di-trifluoroacetato como un aceite transparente (334 mg, 67%); T_a 1,01 min (Método 2); m/z 315 (M+H)⁺ (ES⁺).

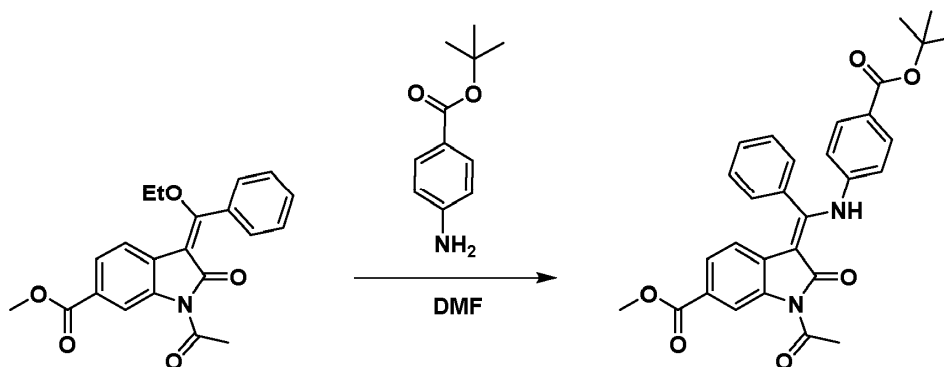
35 **(*Z*)-metil 5-metil-3-(((4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato**



Se combinaron (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato de metilo (Producto intermedio D) (100 mg, 0,264 mmol) y 4-amino-*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)benzenosulfonamida, sal de di-trifluoroacetato (Producto intermedio H) (172 mg, 0,316 mmol) en DMF (3 mL). La mezcla se calentó a 80 °C durante 24 h. Se añadió más 4-amino-*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)benzenosulfonamida, sal de di-trifluoroacetato (50 mg) y la mezcla de reacción se recalentó a 80 °C durante 24 h. Se añadió piperidina (261 µl, 2,64 mmol) y se agitó la mezcla durante 1,5 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida. El material se recogió en solución al 10% de MeOH en DCM (20 mL) y se lavó con agua (20 mL). Se separaron las fases usando un cartucho separador de fases. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desorción súbita (SiO₂, 40 g, 0-10% de MeOH en DCM, elución por gradiente). El producto en columna se purificó mediante HPLC preparatoria (Método A, 20-50% MeCN en agua) para obtener el compuesto del título (*Z*)-metil 5-metil-3-(((4-(*N*-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato como un sólido amarillo (17,4 mg, 10%); T^a 1,64 min (Método 1); m/z 606 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,15 (3H, s), 2,18-2,36 (8H, superponiéndose sobre m), 2,42 (2H, t), 3,76 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,63 (1H, s), 6,95 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,53-7,60 (2H, superponiéndose sobre m), 7,60-7,73 (5H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 10,27 (1H, s), 10,94 (1H, s), 12,28 (1H, s).

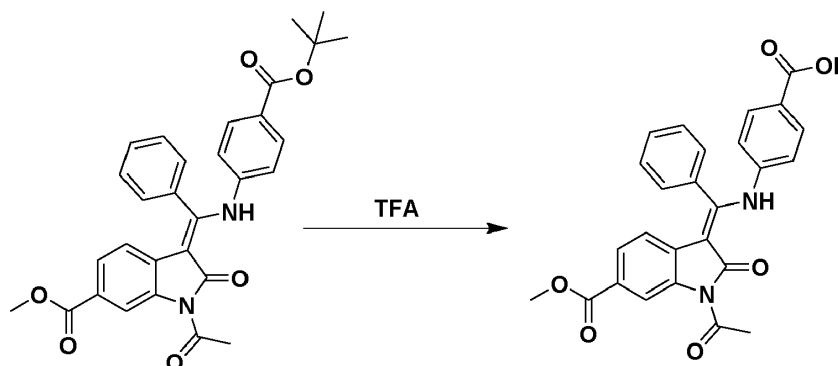
Ejemplo 3: (*Z*)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato

20 Producto intermedio I: (*Z*)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



25 Se calentó una mezcla de (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio A) (4,00 g, 11,0 mmol) y *tert*-butilo 4-aminobenzoato (2,12 g, 11,0 mmol) en DMF (20 mL) a 100 °C durante 16 h. Después de enfriar a TA, el precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con Et₂O (100 mL) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo (*Z*)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (3,68 g, 59%); T^a 3,17 min (Método 1); m/z 513 (M+H)⁺ (ES⁺).

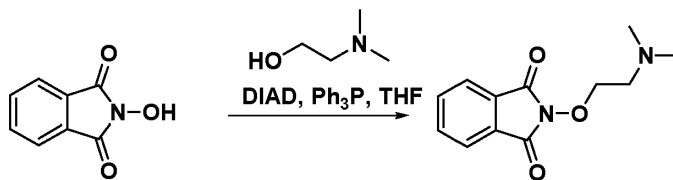
30 Producto intermedio J: (*Z*)-4-(((1-Acetil-6-(metoxicarbonil)-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato



35 A una solución de (*Z*)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio I) (3,67 g, 7,16 mmol) en DCM (75 mL) se añadió TFA (5,52 mL, 71,6 mmol) y la mezcla se agitó

a TA durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato como un sólido amarillo (3,63 g, 84%); T^a 2,59 min (Método 1); m/z 457 (M+H)⁺ (ES⁺).

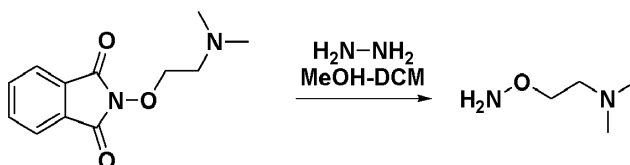
5 Producto intermedio K: 2-(2-(Dimetilamino)etoxi)isoindolina-1,3-diona



A una solución de 2-hidroxiisoindolina-1,3-diona (2,34 g, 14,3 mmol) y trifetilfosfina (3,75 g, 14,3 mmol) en THF (40 mL) a 0 °C se añadió 2-(dimetilamino)etanol (1,20 mL, 11,9 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos antes de añadir DIAD (2,78 mL, 14,3 mmol) gota a gota. La reacción se agitó durante otros 30 min a 0 °C antes de calentarla a temperatura ambiente y agitarla durante 16 h. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se volvió a disolver el residuo en EtOAc (75 mL). La capa orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 50 mL) y a continuación, se secó mediante Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida a aproximadamente 30 mL. La capa orgánica fue enfriada a 0 °C y se añadió una solución acuosa de HCl 1M (20 mL). Una vez completada la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 20 min. Se separaron las capas y la capa acuosa se lavó con Et₂O (2 x 30 mL). A continuación, la capa acuosa se enfrió a 0 °C y se basificó mediante la adición lenta de una solución saturada de NaHCO₃ antes de extraerla con CHCl₃ (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo 2-(2-(dimetilamino)etoxi)isoindolina-1,3-diona como un aceite amarillo (2,29 g, 78%); RMN ¹H (CDCl₃) δ: 2,34 (6H, s), 2,76 (2H, t), 4,31 (2H, t), -7,71-7,77 (2H, superponiéndose sobre m), 7,80-7,86 (2H, superponiéndose sobre m).

Producto intermedio L: 2-(Aminooxi)-N,N-dimetiletanamina, 2HCl

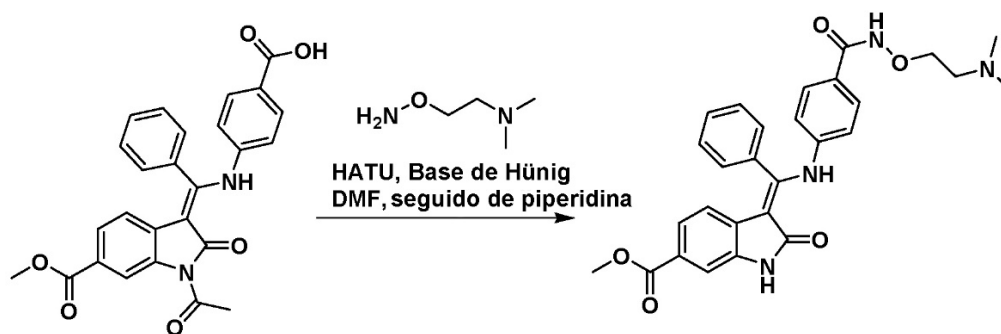
25



A una solución de 2-(2-(dimetilamino)etoxi)isoindolina-1,3-diona (Producto intermedio K) (2,29 g, 9,78 mmol) en MeOH/DCM (2:1, 30 mL) se añadió una solución acuosa de hidracina al 25% (3,68 mL, 29,3 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 18 h. La mezcla se diluyó con Et₂O (100 mL) y se filtró a través de un separador de fases. El filtrado se desgasificó antes de añadir 4M HCl en dioxano (10 mL). La mezcla se agitó a TA durante 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se trituró con Et₂O (2 x 50 mL) para obtener el compuesto del subtítulo 2-(aminooxi)-N,N-dimetiletanamina, 2HCl como un sólido blanco (891 mg, 50%); RMN ¹H δ: 2,79 (6H, s), 3,42 (2H, m), 4,45 (2H, m), 11,13 (4H, br s).

35

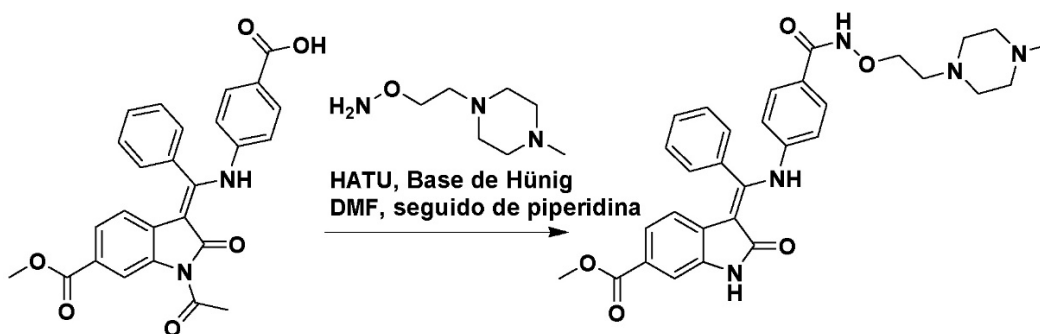
(Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio J) (0,050 g, 0,088 mmol), 2-(aminooxi)-N,N-dimetiletanamina, 2HCl (Producto

intermedio L) (0,031 g, 0,18 mmol) y HATU (0,067 g, 0,18 mmol) en DMF (2 mL) se añadió base de Hünig (0,077 mL, 0,44 mmol) gota a gota. Se agitó la mezcla a TA durante 2 h antes de añadir piperidina (0,087 mL, 0,876 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante 2 h antes de eliminar el disolvente a presión reducida. Se volvió a disolver el residuo en MeOH (5 mL) y se filtró a través de una columna SCX, lavando con MeOH (100 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (100 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparatoria (Método B, 35-65% MeCN en agua) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (13 mg, 28%); T^a 1,80 min (Método 2); m/z 501 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,20 (6H, s), 2,54 (2H, m), 3,79 (3H, s), 3,94 (2H, t), 5,90 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,20 (1H, dd), 7,45 (1H, d), 7,48-7,68 (7H, m superpuesto), 9,41 (1H, s), 10,73 (1H, s), 12,28 (1H, s).

Ejemplo 4: (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



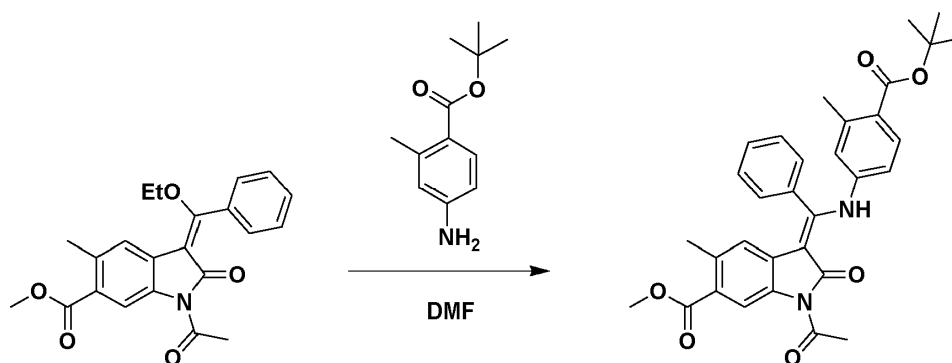
15

A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio J) (100 mg, 0,18 mmol), O-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina (Producto intermedio F) (28 mg, 0,18 mmol) y HATU (73 mg, 0,19 mmol) en DMF (3 mL) se añadió base de Hünig (0,092 mL, 0,53 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a TA durante 18 h. Se añadió piperidina (0,17 ml, 1,75 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 1,5 h antes de eliminar la mayor parte del disolvente a presión reducida. El residuo se dividió entre EtOAc (10 mL) y agua/una solución de NaHCO₃ saturada (1:1, 10 mL). Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Se volvió a disolver el residuo en MeOH (10 mL) y se filtró a través de una columna SCX, lavando con MeOH (100 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (100 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 10% MeOH en DCM y a continuación, 1% NH₃ en MeOH) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato como un sólido amarillo (64 mg, 64%); T^a 1,45 min (Método 1); m/z 556 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,20-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 2,54 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, d), 7,42 (1H, d), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s).

Ejemplo 5: (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

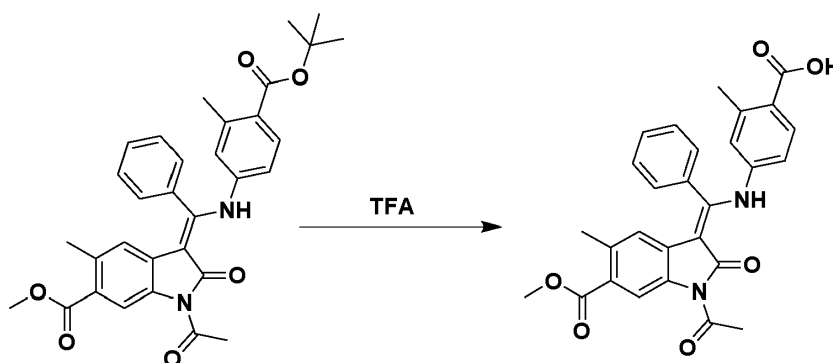
35

Producto intermedio M: (Z)-Metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato



Se calentó una mezcla de (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio D) (1,11 g, 2,91 mmol) y *tert*-butilo 4-amino-2-metilbenzoato (604 mg, 2,91 mmol) en DMF (9 mL) a 100 °C 5 durante 18 h. Después de enfriar a TA, el precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con Et₂O (10 mL) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo (*Z*)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (1,05 g, 65%); T^a 3,28 min (Método 1); m/z 541 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,49 (9H, s), 2,13 (3H, s), 2,33 (3H, s), 2,73 (3H, s), 3,77 (3H, s), 5,53 (1H, s), 6,74 (1H, dd), 6,92 (1H, m), 7,43-7,56 (3H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 8,67 (1H, s), 11,87 (1H, s).

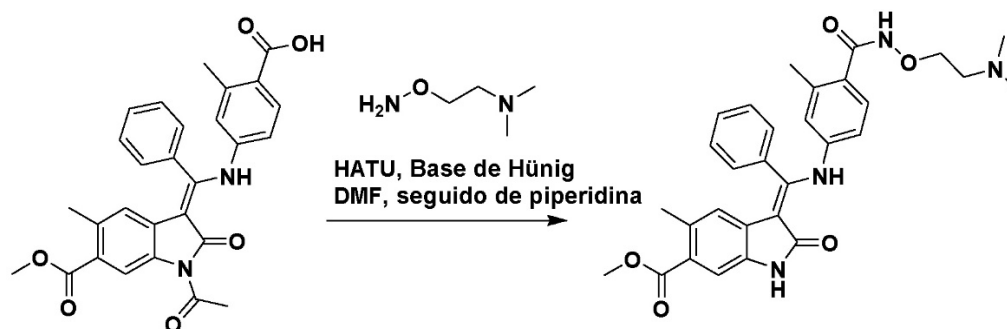
Producto intermedio N: (*Z*)-4-(((1-Acetil-6-(metoxicarbonil)-5-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)-2-ácido metilbenzoico, aducto de trifluoroacetato



15

A una solución de (*Z*)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio M) (1,0 g, 1,85 mmol) en DCM (14 mL) se añadió TFA (1,42 mL, 18,5 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo (*Z*)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-5-metil-2-oxoindolina-3-ilideno)(fenil)metil)amino)-2-ácido metilbenzoico, aducto de trifluoroacetato como un sólido amarillo (1,1 g, 97%); T^a 2,85 min (Método 1); m/z 485 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,36 (3H, s), 2,73 (3H, s), 3,77 (3H, s), 5,53 (1H, s), 6,74 (1H, dd), 6,91 (1H, m), 7,48-7,56 (2H, superponiéndose sobre m), 7,55-7,73 (4H, superponiéndose sobre m), 8,68 (1H, s), 11,89 (1H, s).

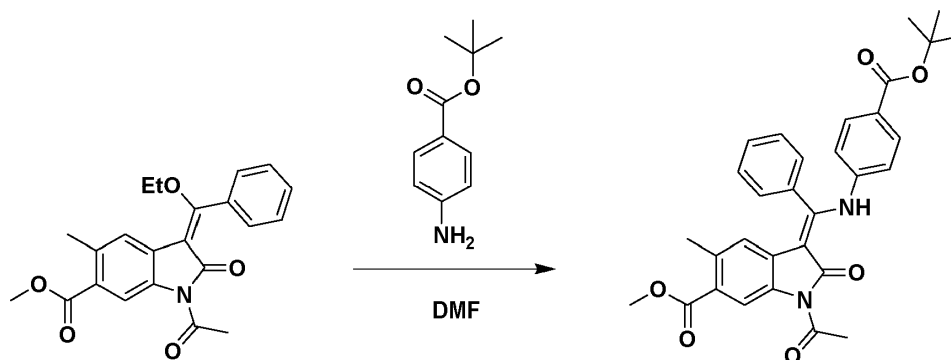
25 (*Z*)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato



A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxycarbonil)-5-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)-2-ácido metilbenzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio N) (400 mg, 0,668 mmol), 2-(aminooxi)*N,N*-dimetiletanamina, 2HCl (166 mg, 0,936 mmol) (Producto intermedio L) y HATU (305 mg, 0,802 mmol) en DMF (20 mL) se añadió base de Hünig (0,584 mL, 3,34 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a TA durante 2 h. Se añadió piperidina (0,662 mL, 6,68 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 16 h antes de eliminar la mayor parte del disolvente a presión reducida. El residuo se dividió entre solución al 10% de MeOH en DCM (10 mL) y agua/una solución de NaHCO₃ saturada (1:1, 10 mL). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con una solución al 10% de MeOH en DCM (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se filtraron a través de una columna SCX, lavando con MeOH (50 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (50 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 0-10% MeOH en DCM y a continuación, 1% NH₃ en MeOH) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (100 mg, 28%); T_r 1,66 min (Método 1); m/z 529 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,17 (9H, s), 2,44-2,48 (2H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,58 (1H, s), 6, 59 (1H, dd), 6,78 (1H, m), 7,08 (1H, d), 7,36 (1H, s), 7,53 (2H, m), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 10,86 (1H, s), 12,18 (1H, s).

Ejemplo 6: (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato

Producto intermedio O: (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

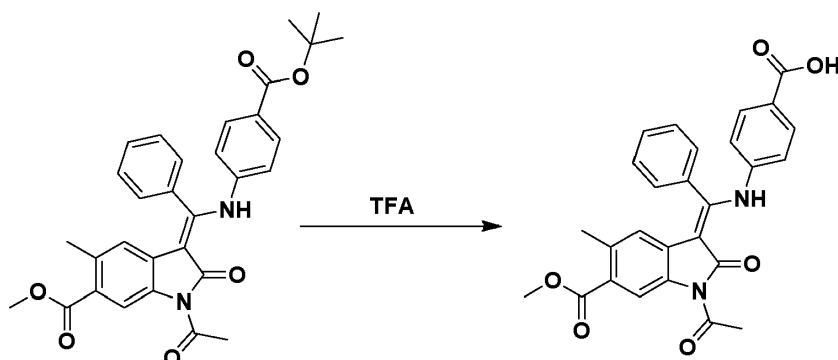


25

Se calentó una mezcla de (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio D) (1,00 g, 2,64 mmol) y *tert*-butilo 4-aminobenzoato (509 mg, 2,64 mmol) en DMF (9 mL) a 100 °C durante 18 h. Después de enfriar a TA, el precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con Et₂O (10 mL) y se secó *in vacuo* para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (1,20 g, 86%); T_r 3,23 min (Método 1); m/z 527 (M+H)⁺ (ES⁺).

Producto intermedio P: (Z)-4-(((1-Acetil-6-(metoxycarbonil)-5-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato

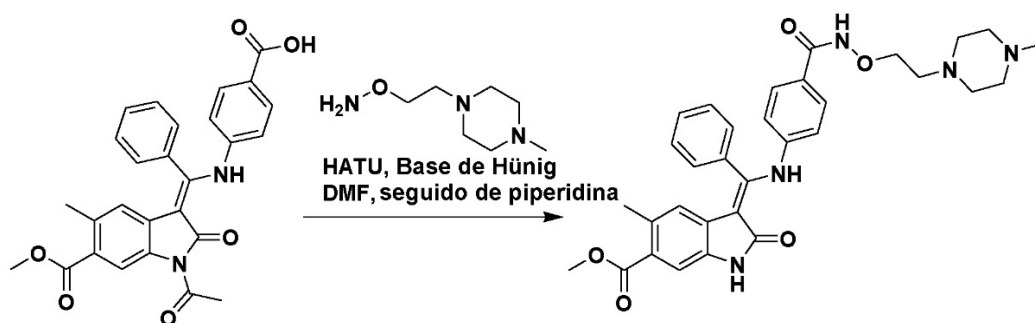
35



A una solución de (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio O) (1,20 g, 2,28 mmol) en DCM (14 mL) se añadió TFA (1,76 mL, 22,8 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 72 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-5-metil-2-oxoindolina-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato como un sólido amarillo (1,00 g, 72%); T^a 2,72 min (Método 1); m/z 471 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,73 (3H, s), 3,78 (3H, s), 5,54 (1H, s), 7,04 (2H, m), 7,50 (2H, m), 7,57-7,76 (5H, superponiéndose sobre m), 8,68 (1H, sm), 11,89 (1H, s), 12,89 (1H, s).

10

(Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



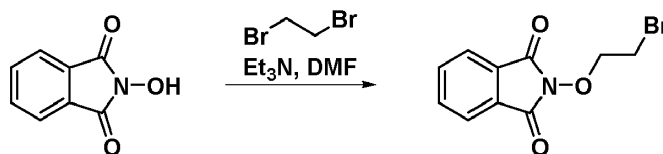
15

A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-5-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio P) (57 mg, 0,098 mmol), O-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina (Producto intermedio F) (16 mg, 0,098 mmol) y HATU (41 mg, 0,107 mmol) en DMF (3 mL) se añadió base de Hünig (0,051 mL, 0,293 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a TA durante 2 h. Se añadió piperidina (0,097 mL, 0,975 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 2 h antes de eliminar la mayor parte del disolvente a presión reducida. El residuo se dividió entre EtOAc (10 mL) y agua/una solución de NaHCO₃ saturada (1:1, 10 mL). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se filtraron a través de una columna SCX, lavando con MeOH (50 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (50 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 12 g, 0-10% MeOH en DCM y a continuación, 1% NH₃ en MeOH) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato como un sólido amarillo (36 mg, 64%); T^a 1,49 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,13 (3H, s), 2,17-2,35 (4H, superponiéndose sobre m), 2,34-2,47 (4H, superponiéndose sobre m), 2,54 (2H, t), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,47-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 10,88 (1H, s), 11,52 (1H, s), 12,22 (1H, s).

20

Ejemplo 7: (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxietil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato

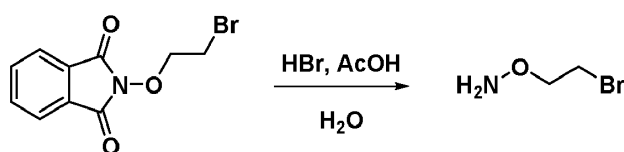
35 Producto intermedio Q: 2-(2-Bromoetoxi)isoindolina-1,3-diona



Se combinaron 2-hidroxiisoindolina-1,3-diona (5,00 g, 30,7 mmol), trietilamina (9,40 mL, 67,4 mmol) y 1,2-dibromoetano (12,4 mL, 144 mmol) en DMF (32 mL) y se agitaron a TA durante 16 h. Se eliminó el precipitado mediante filtración, lavando con DMF (3 x 5 mL), y se descartó el sólido. Se diluyó el filtrado con agua (250 mL) y se extrajo el producto con EtOAc (50 mL). La capa orgánica se lavó con 1M de solución acuosa de HCl (50 mL) y agua (50 mL), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo 2-(2-bromoetoxi)isoindolina-1,3-diona como un sólido crema (6,28 g, 68%); RMN ¹H δ: 3,75 (2H, t), 4,45 (2H, t), 7,82-7,91 (4H, sobreponiéndose sobre m).

10

Producto intermedio R: O-(2-Bromoetil)hidroxilamina, HBr

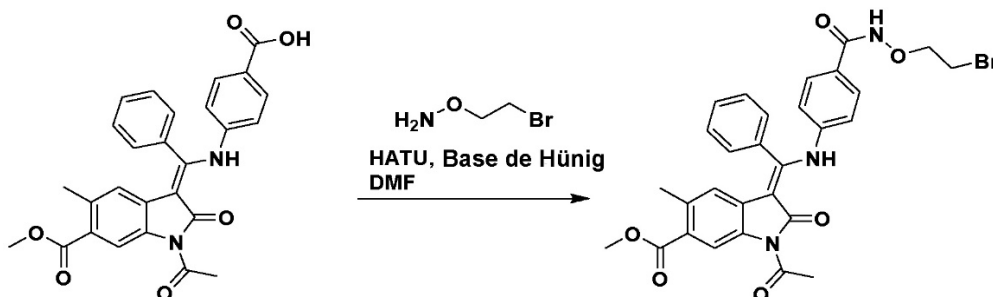


15

Se combinaron 2-(2-Bromoetoxi)isoindolina-1,3-diona (Producto intermedio Q) (1,00 g, 3,70 mmol) con HBr conc (48 % en peso de agua, 4,5 mL) y ácido acético (3 mL, 52,4 mmol). La mezcla se calentó a 120 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió, el precipitado se eliminó mediante filtración y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo O-(2-Bromoetil)hidroxilamina, HBr como un sólido tostado (550 mg, 74%); RMN ¹H δ: 3,72 (2H, m), 4,28 (2H, m), 10,70 (3H, br s).

20

Producto intermedio S: (Z)-Metil-1-acetil-3-(((4-((2-bromoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

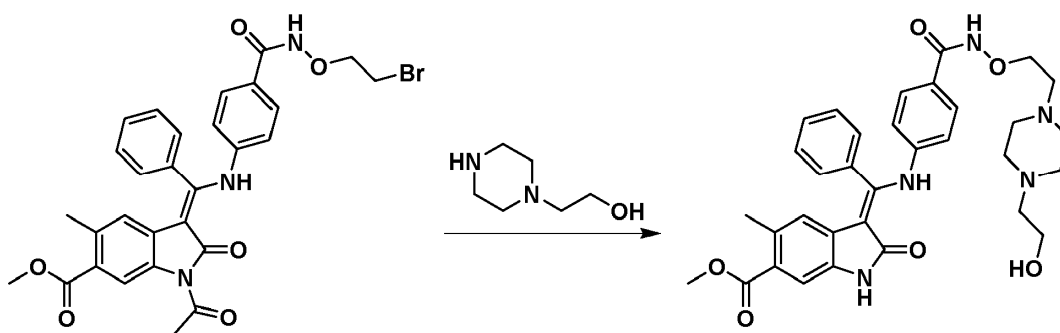


25

A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxycarbonil)-5-metil-2-oxoindolina-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio P) (300 mg, 0,638 mmol), HATU (291 mg, 0,765 mmol) y base de Hünig (334 μL, 1,91 mmol) en DMF (2 mL) se añadió O-(2-bromoetil)hidroxilamina, HBr (Producto intermedio R) (211 mg, 0,956 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 10 min. La mezcla de reacción se diluyó MeOH al 10% en DCM y se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-((2-bromoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato; T^a 2,67 min (Método 1); m/z 592/594 (M+H)⁺ (ES⁺). El material bruto se utilizó directamente en la siguiente etapa suponiendo un rendimiento cuantitativo.

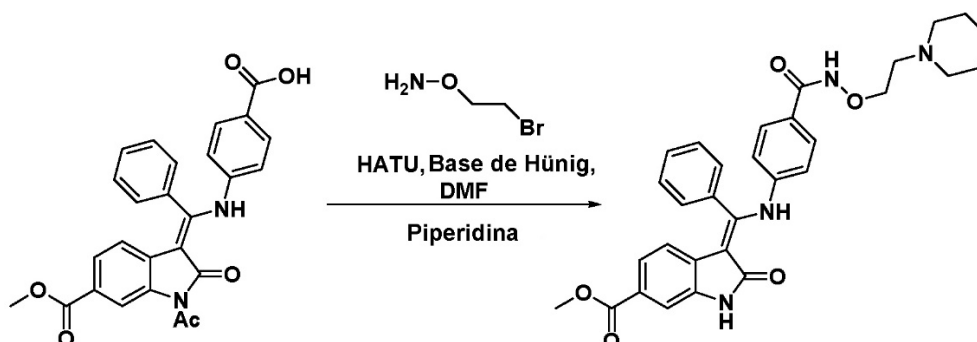
35

(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxi)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato



Se combinó (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-((2-bromoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio S) (100 mg, 0,169 mmol) con 2-(piperazina-1-il)etanol (659 mg, 5,06 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con MeOH al 10% en DCM (10 mL) y se lavó con agua (5 mL). La capa acuosa se extrajo además con MeOH al 10% en DCM (10 mL) y las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparatoria (Método A, 20-50% MeCN en agua) para obtener el compuesto del título (Z)-metilo 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxi)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato como un sólido amarillo (25 mg, 23%); T^a 1,86 min (Método 2); m/z 600 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ : 2,13 (3H, s), 2,30-2,50 (8H, superponiéndose sobre m), 2,36 (2H, t), 2,54 (2H, m), 3,47 (2H, t), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5, 61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (4H, superponiéndose sobre m), 8,17 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,21 (1H, s).

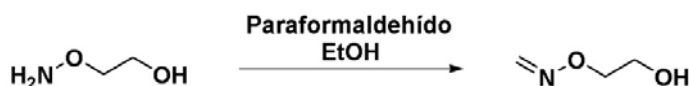
15 **Ejemplo 8: (Z)-metil 2-oxo-3-(fenil-((4-((2-(piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato, 0,7 ácido fórmico**



20 A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-2-oxoindolina-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio J) (100 mg, 0,2 mmol), HATU (80 mg, 0,21 mmol) y base de Hünig (0,092 ml, 0,526 mmol) en DMF (3 mL) se añadió O-(2-bromoetil)hidroxilamina, HBr (Producto intermedio R) (27 mg, 0,123 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 1 h. Se añadió más O-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etil)hidroxilamina, HBr (20 mg). La mezcla de reacción se agitó durante otra hora. Se extrajo la mitad de la mezcla de reacción y se añadió a 0,35 mL de piperidina y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante HPLC preparatoria (Método A, 15-70% MeCN en agua) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 2-oxo-3-(fenil-((4-((2-(piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato, 0,7 ácido fórmico (1,6 mg, 2%). T^a 1,66 min (Método 1); m/z 541 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ 1,33-1,42 (2H, superponiéndose sobre m), 1,45-1,52 (4H, superponiéndose sobre m), 2,40-2,47 (4H, superponiéndose sobre m), 2,57 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,94 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 8,19 (0,7 H, s), 11,04 (1H, s), 12,27 (1H, s).

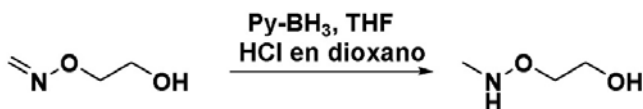
35 **Ejemplo 9: (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato**

Producto intermedio T: Formaldehído O-(2-hidroxi)etiloxima



Se calentó una mezcla de 2-(aminooxi)etanol (3,16 g, 41,0 mmol) y paraformaldehído (1,23 g, 41,0 mmol) bajo reflujo en EtOH (50 mL) durante 18 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo formaldehído O-(2-hidroxi)etiloxima como un aceite incoloro (3,56 g, 97%); RMN ¹H δ: 3,57 (2H, q), 4,05-3,96 (2H, m), 5,47 (1H, t), 6,57 (1H, d), 7,05 (1H, d).

Producto intermedio U: 2-((Metilamino)oxi)etanol

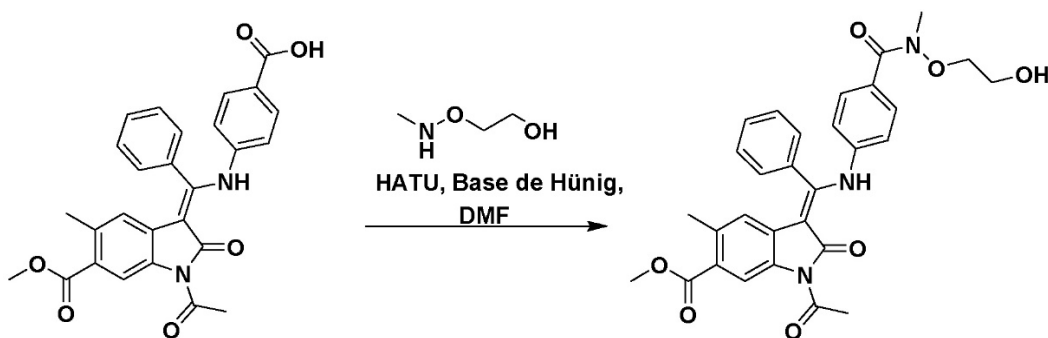


10

A una solución de formaldehído O-(2-hidroxi)etiloxima (Producto intermedio T) (3,56 g, 40,0 mmol) en THF (25 mL) a 0 °C se añadió Py-BH₃ (6,05 ml, 59,9 mmol). Se añadió 4M HCl en dioxano (15 mL) a lo largo de 1 h. La mezcla se calentó a TA y se agitó durante 24 h, a continuación, se diluyó lentamente con MeOH (30 mL) y se filtró a través de una columna SCX, lavándose con MeOH (250 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (250 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo 2-((metilamino)oxi)etanol como un aceite incoloro (0,833 g, 18%); RMN ¹H δ: 2,51 (3H, m), 3,50 (2H, m), 3,57 (2H, m), 4,53 (1H, s), 6,45 (1H, m).

Producto intermedio V: (Z)-metil-1-acetil-3-(((4-((2-hidroxi)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

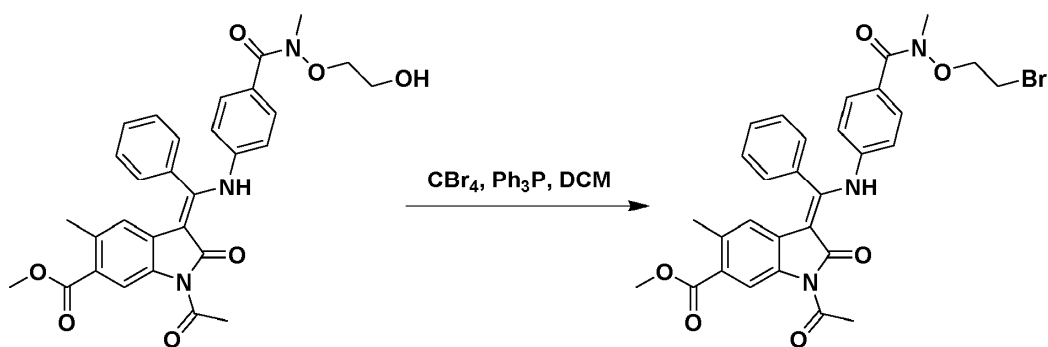
20



A una solución de (Z)-4-(((1-acetil-6-(metoxicarbonil)-5-metil-2-oxoindolin-3-ilideno)(fenil)metil)amino)ácido benzoico, aducto de trifluoroacetato (Producto intermedio P) (0,528 g, 0,903 mmol), 2-((metilamino)oxi)etanol (Producto intermedio U) (0,158 g, 1,36 mmol) y HATU (0,378 g, 0,99 mmol) en DMF (3 mL) se añadió base de Hünig (0,47 ml, 2,71 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a TA durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se dividió entre 10% MeOH en EtOAc (10 mL) y agua (10 mL). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y a continuación, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 0-5% MeOH en DCM, elución por gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-metil-1-acetil-3-(((4-((2-hidroxi)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (0,482 g, 88%); T_r 2,38 min (Método 1); m/z 544 (M+H)⁺ (ES⁺).

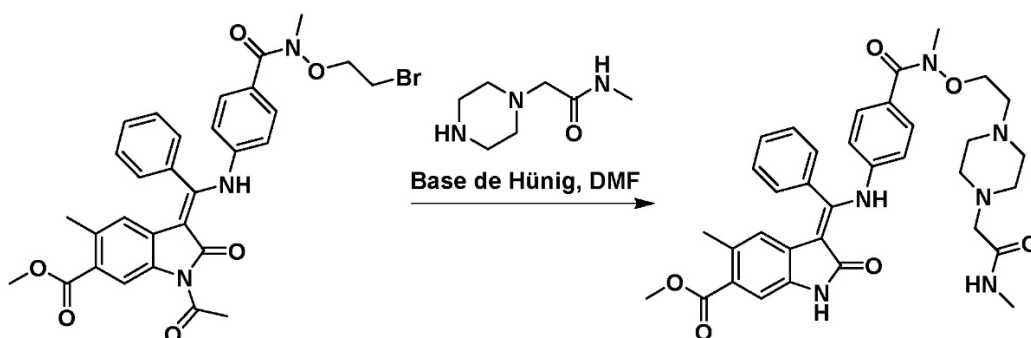
Producto intermedio W: (Z)-metil-1-acetil-3-(((4-((2-bromo)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

35



A una solución de (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-((2-hidroxiatoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio V) (0,482 g, 0,887 mmol) en DCM (10 mL) a 0 °C se añadieron trifetilfosfina (0,256 g, 0,975 mmol) y CBr₄ (0,323 g, 0,975 mmol). Se calentó la mezcla a TA y se agitó durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 0-2% MeOH en DCM, elución por gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-((2-bromoetoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido naranja (681 mg, cuant.); T^a 2,80 min (Método 2); m/z 606/608 (M+H)⁺ (ES⁺).

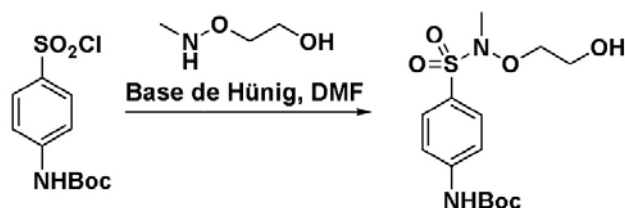
(Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato



A una mezcla de (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-((2-bromoetoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio W) (75 mg, 0,124 mmol) y *N*-metil-2-(piperazina-1-il)acetamida, 2HCl (142 mg, 0,618 mmol) en DMF (2 mL) se añadió base de Hünig (0,259 ml, 1,48 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 5 h. Después de enfriar a TA, se añadió piperidina (0,245 ml, 2,47 mmol) y la mezcla se calentó a 60 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a TA y se retiró el disolvente a presión reducida. El residuo se dividió entre EtOAc (10 mL) y agua/una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1:1, 10 mL). Se separaron las capas y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y se filtraron directamente a través de una columna SCX, lavando con MeOH (50 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (50 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 12 g, 0-10% 0,7 de amoníaco en MeOH en DCM, elución de gradiente) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (11 mg, 13%); T^a 1,58 min (Método 1); m/z 641 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,14 (3H, s), 2,23-2,36 (8H, superponiéndose sobre m), 2,59 (3H, d), 2,87 (2H, m), 3,21 (3H, s), 3,31 (2H, s), 3,75 (3H, s), 3,78 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,42 (2H, m), 7,53 (2H, m), 7,58-7,66 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s).

Ejemplo 10: (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato

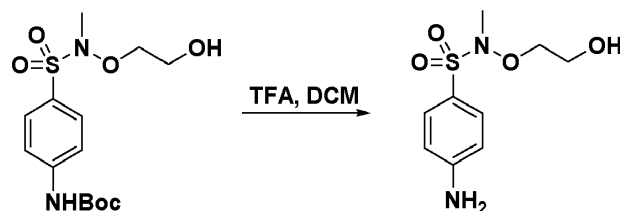
Producto intermedio X: *tert*-butilo (4-(*N*-(2-hidroxiatoxi)-*N*-metilsulfamoil)fenil)carbamoato



A una solución de 2-((metilamino)oxi)etanol (Producto intermedio U) (0,116 g, 1,27 mmol) en DMF (3 mL) se añadió base de Hünig (0,445 mL, 2,55 mmol) seguida de *tert*-butilo (4-(clorosulfonyl)fenil)carbamato (0,371 g, 1,27 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se dividió entre DCM (10 mL) y 1M de solución acuosa de HCl (10 mL). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con DCM (2 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y se filtraron a través de un separador de fases. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 0-70% EtOAc en hexanos, elución de gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo *tert*-butilo (4-(*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilsulfamoil)fenil)carbamato como una goma rosa, que se solidificó al reposar durante la noche (246 mg, 41%); T^a 1,97 min (Método 2); m/z 347 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,49 (9H, s), 2,71 (3H, s), 3,54 (2H, q), 3,93 (2H, dd), 4,68 (1H, t), 7,69-7,76 (4H, superponiéndose sobre m), 9,97 (1H, s).

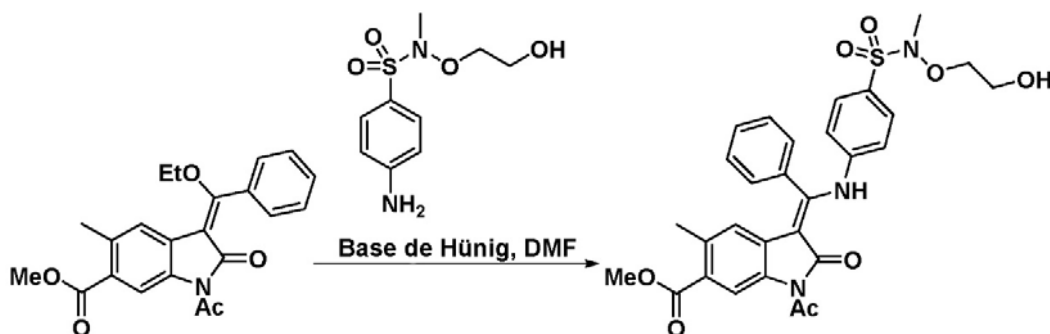
Producto intermedio Y: 4-amino-*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilbencenosulfonamida, sal de trifluoroacetato

15



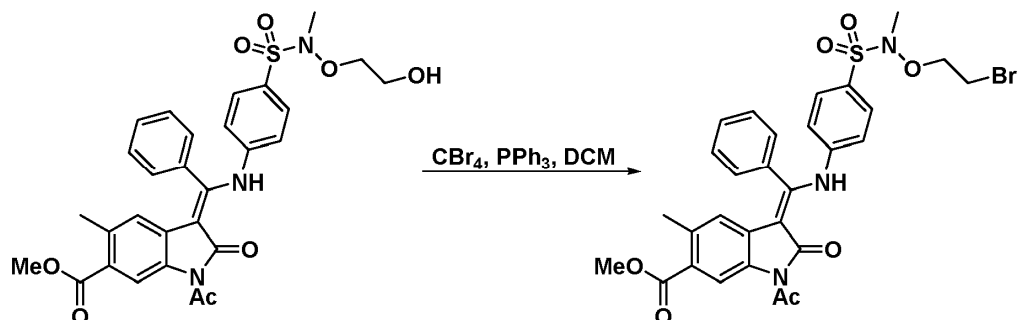
A una solución de *tert*-butilo (4-(*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilsulfamoil)fenil)carbamato (Producto intermedio X) (202 mg, 0,583 mmol) en DCM (3 mL) se añadió TFA (0,449 ml, 5,83 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 4 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y se volvió a disolver el residuo en MeOH (3 mL) y se filtró a través de una columna SAX, lavando con MeOH (75 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto del subtítulo 4-amino-*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilbencenosulfonamida, sal de trifluoroacetato de T como una goma naranja (0,23 g, 95%); T^a 1,13 min (Método 2); m/z 247 (M+H)⁺ (ES⁺).

25 Producto intermedio Z: (Z)-Metil-1-acetil-3-(((4-(*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

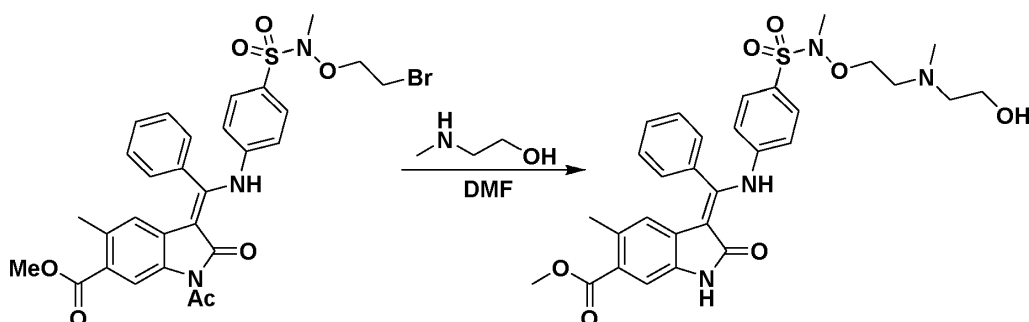


Una mezcla de (*E*)-metil 1-acetil-3-(etoxi(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio D) (0,231 g, 0,61 mmol) y 4-amino-*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilbencenosulfonamida, sal de trifluoroacetato (Producto intermedio Y) (0,219 g, 0,608 mmol) en DMF (3 mL) se trató con base de Hünig's (0,106 ml, 0,608 mmol) y se calentó a 80 °C durante 18 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 24 g, 0-2% MeOH en DCM, elución por gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(*N*-(2-hidroxi)etoxi)-*N*-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como una goma naranja (226 mg, 63%); T^a 2,58 min (Método 2); m/z 580 (M+H)⁺ (ES⁺).

Producto intermedio AA: (Z)-Metil 1-acetil-3-(((4-(*N*-(2-bromo)etoxi)-*N*-

metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

5 A una solución de (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(N-(2-hidroxiatoxy)-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (0,226 g, 0,390 mmol) (Producto intermedio Z) en DCM (4 mL) se añadieron trifetilfosfina (0,112 g, 0,429 mmol) y CBr₄ (41 µL, 0,429 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 16 h. Se añadieron porciones adicionales de PPh₃ (0,112 g, 0,429 mmol) y CBr₄ (41 µL, 0,429 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 12 g, 0-2% MeOH en DCM, elución por gradiente) para obtener el compuesto del subtítulo (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(N-(2-bromoetoxy)-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (161 mg, 64%); T^a 3,01 min (Método 2); m/z 642/644 (M+H)⁺ (ES⁺).

(Z)-Metil3-(((4-(N-(2-((2-hidroxietyl)(metil)amino)etoxi)-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato

Una solución de (Z)-metil 1-acetil-3-(((4-(N-(2-bromoetoxy)-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato (Producto intermedio AA) (77 mg, 0,120 mmol) y 2-(metilamino)etanol (0,096 ml, 1,20 mmol) en DMF (2 mL) se calentó a 60 °C durante 16 h. Después de enfriar a TA, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se dividió entre EtOAc (10 mL) y agua/una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1:1, 10 mL). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron y se filtraron a través de una columna SCX, lavando con MeOH (50 mL). Se descartó el filtrado antes de lavar la columna con 1% NH₃ en MeOH (50 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 12 g, 0-10% 0,7 M de amoníaco en MeOH en DCM) para obtener el compuesto del título (Z)-metil 3-(((4-(N-(2-((2-hidroxietyl)(metil)amino)etoxi)-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato como un sólido amarillo (41 mg, 55%); T^a 1,72 min (Método 1); m/z 595 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,14 (3H, s), 2,17-2,30 (4H, superponiéndose sobre m), 2,68 (3H, d), 3,43-3,54 (2H, superponiéndose sobre m), 3,76 (3H, s), 3,96-4,08 (2H, superponiéndose sobre m), 4,40 (1H, m), 5,65 (1H, s), 6,96 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,53-7,75 (7H, superponiéndose sobre m), 10,96 (1H, s), 12,29 (1H, s), (falta 3H, se supone superpuesto sobre el disolvente).

Los ejemplos de compuestos siguientes (**Tabla 2**) se pueden preparar mediante métodos sintéticos similares a los ejemplos antes mencionados o mediante métodos descritos en otra parte en esta invención:

35

Tabla 2: Ejemplos de compuestos de la invención adicionales

*Índice de códigos de ruta:

Ruta 1A: véase el Ejemplo 1 o Ejemplo 2

Ruta 1B: véase el Ejemplo 3, Ejemplo 4, Ejemplo 5 o Ejemplo 6

Ruta 1C: véase el Ejemplo 7 o Ejemplo 8

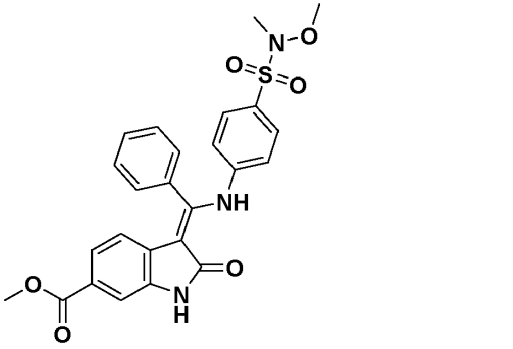
*Índice de códigos de ruta:

Ruta 1D: véase el Ejemplo 9

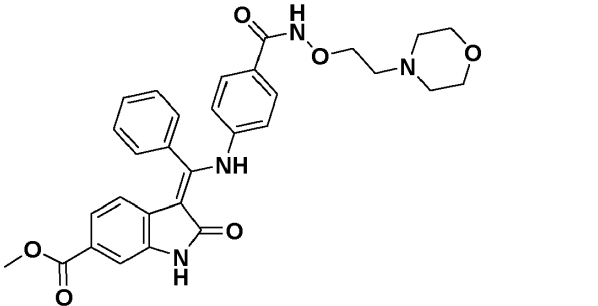
Ruta 1E: véase el Ejemplo 10

N.º de Ejemplo, Estructura, Nombre, Código de ruta, Análisis LC-MS y Datos espectrales de RMN ¹H Ejemplo 11:

5

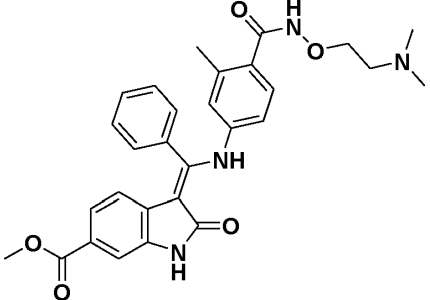
	<p>T^a 2,43 min (Método 1); m/z 494 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,66 (3H, s), 3,66 (3H, s), 3,78 (3H, s), 5,91 (1H, d), 6,98 (2H, d), 7,22 (1H, dd), 7,43 (1H, d), 7,53-7,60 (4H, superponiéndose sobre m), 7,60-7,72 (3H, superponiéndose sobre m), 11,08 (1H, s), 12,34 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(N-metoxi-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1A</p>	

Ejemplo 12:

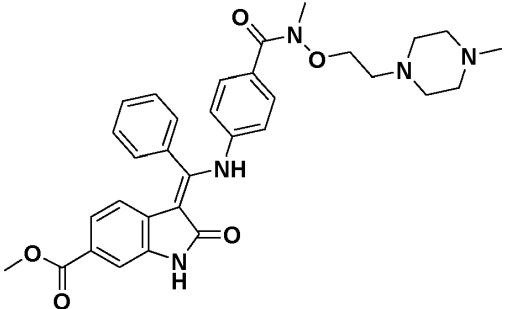
	<p>T^a 1,56 min (Método 1); m/z 543 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,39-2,46 (4H, superponiéndose sobre m), 2,54 (2H, t), 3,50-3,58 (4H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,94 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, d), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,05 (1H, s), 11,59 (1H, s), 12,27 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-morfolinoietoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato de metil</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

10

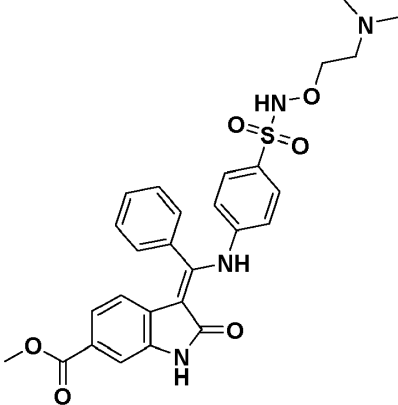
Ejemplo 13:

	<p>T^a 1,56 min (Método 1); m/z 515 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,16 (9H, s), 2,47 (2H, m), 3,77 (3H, s), 3,90 (2H, t), 5,84 (1H, m), 6,57 (1H, dd), 6,77 (1H, d), 7,07(1H, d),7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,52 (2H, m) 7,55-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,02 (1H, s), 12,25 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

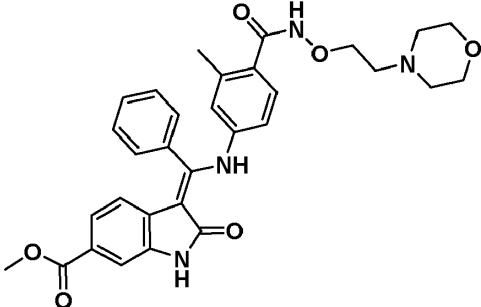
5 Ejemplo 14:

	<p>T^a 1,50 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,15-2,28 (8H, superponiéndose sobre m), 2,27 (2H, t), 3,21 (3H, s), 3,75-3,78 (5H, superponiéndose sobre m), 5,88 (1H, d), 6,85 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,35-7,46 (3H, superponiéndose sobre m), 7,49-7,56 (2H, m), 7,55-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 12,29 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(metil(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

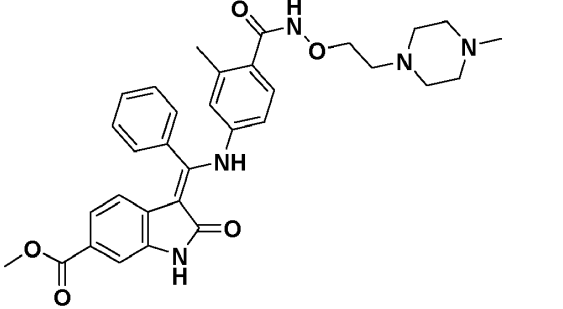
Ejemplo 15:

	<p>T^a 1,66 min (Método 1); m/z 537 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,12 (6H, s), 2,38-2,46 (2H, m), 3,78 (3H, s), 3,90 (2H, t), 5,89 (1H, d), 6,91-6,99 (2H, superponiéndose sobre m), 7,22 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,53-7,71 (7H, m), 10,34 (1H, s), 11,08 (1H, s), 12,31 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(N-(2-dimetilamino)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1A</p>	

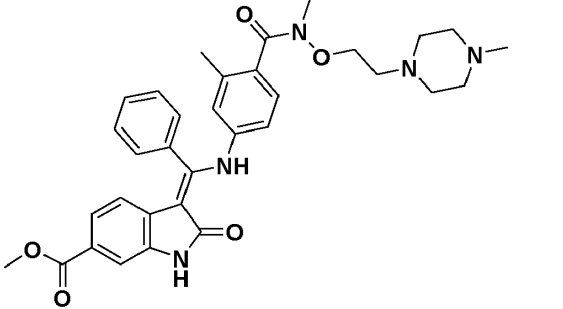
5 Ejemplo 16:

	<p>T^a 1,59 min (Método 1); m/z 557 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,17 (3H, s), 2,40-2,45 (4H, superponiéndose sobre m), 2,54 (2H, t), 3,54-3,56 (4H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,95 (2H, t), 5,84 (1H, d), 6,57 (1H, dd), 6,78 (1H, d), 7,08 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,51-7,53 (2H, superponiéndose sobre m), 7,56-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 11,02 (1H, s), 11,31 (1H, s), 12,25 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((3-metil-4-((2-morfolinoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 17:

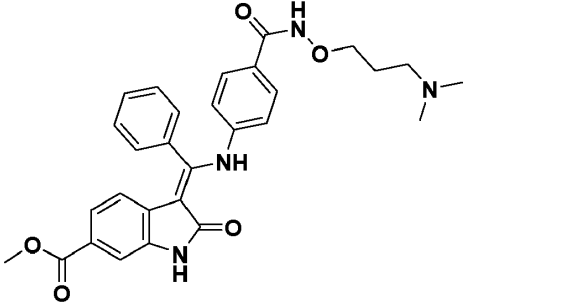
	<p>T^a 1,46 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,17 (3H, s), 2,18 (3H, s), 2,28-2,49 (8H, superponiéndose sobre m), 2,55 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,93 (2H, t), 5,84 (1H, d), 6,57 (1H, dd), 6,78 (1H, d), 7,08 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,47-7,56 (2H, superponiéndose sobre m), 7,55-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 11,25 (1H, s), 12,26 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((3-metil-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5 Ejemplo 18:

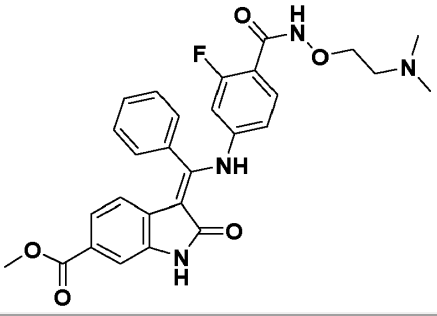
	<p>T^a 1,53 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,06 (3H, s), 2,11 (3H, s), 2,08-2,28 (10H, superponiéndose sobre m), 3,18 (3H, s), 3,64-3,72 (2H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 5,87 (1H, d), 6,59 (1H, dd), 7,02 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,51 (2H, m), 7,55-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,01 (1H, s), 12,25 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((3-metil-4-(metil(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 19:

10

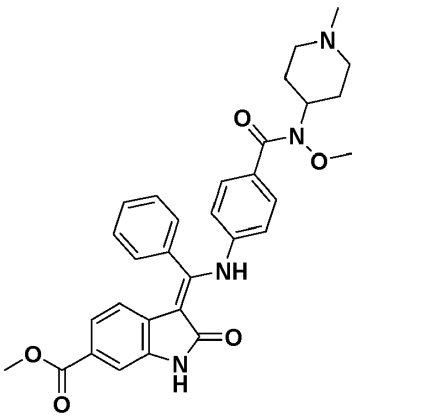
	<p>T^a 1,54 min (Método 1); m/z 515 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,69 (2H, m), 2,11 (6H, s), 2,31 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,84 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,55 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 20:

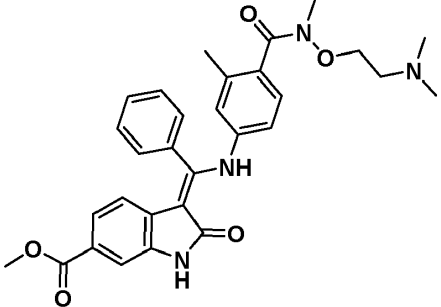
	<p>T^a 1,55 min (Método 1); m/z 519 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,17 (6H, s), 2,46-2,48 (2H, superponiéndose sobre m), 3,78 (3H, s), 3,90 (2H, t), 5,89 (1H, d), 6,58 (1H, d), 6,72-6,80 (1H, superponiéndose sobre m), 7,22 (1H, dd), 7,35-7,44 (2H, superponiéndose sobre m), 7,51-7,58 (2H, superponiéndose sobre m), 7,59-7,72 (3H, m), 11,06 (1H, s), 12,21 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-fluorofenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5

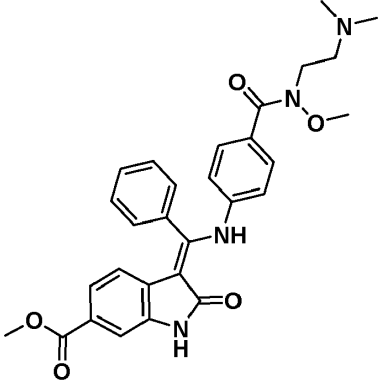
Ejemplo 21:

	<p>T^a 1,57 min (Método 1); m/z 541 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,64-1,69 (2H, superponiéndose sobre m), 1,82-1,87 (4H, superponiéndose sobre m), 2,14 (3H, s), 2,79-2,84 (2H, superponiéndose sobre m), 3,45 (3H, s), 3,77 (3H, s), 3,80-3,90 (1H, superponiéndose sobre m), 5,89 (1H, d), 6,82-6,92 (2H, superponiéndose sobre m), 7,21 (1H, dd), 7,30-7,38 (2H, superponiéndose sobre m), 7,42 (1H, d), 7,50-7,53 (2H, superponiéndose sobre m), 7,54-7,67 (3H, superponiéndose sobre m), 11,02 (1H, s), 12,26 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-il)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

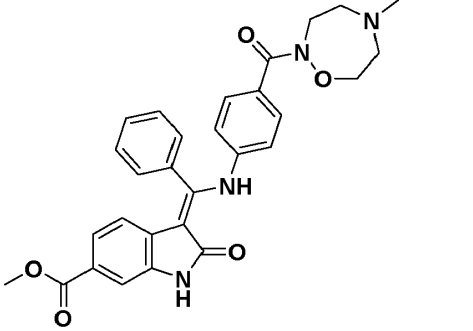
Ejemplo 22:

	<p>T^a 1,58 min (Método 1); m/z 529 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H (isómero en rotación mayor) δ: 1,97 (6H, s), 2,17 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,72-3,79 (5H, superponiéndose sobre m), 5,86 (1H, d), 6,60 (1H, dd), 6,80 (1H, d), 7,03 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,46-7,54 (2H, superponiéndose sobre m), 7,55-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,99 (1H, s), 12,23 (1H, s). (Falta 2H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)(metil)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

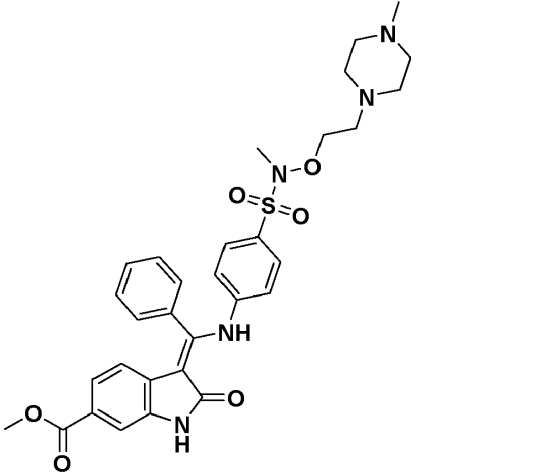
5 Ejemplo 23:

	<p>T^a 1,57 min (Método 1); m/z 515 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,09 (6H, s), 2,43 (2H, t), 3,46 (3H, s), 3,66 (2H, t), 3,77 (3H, s), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,37 (2H, m), 7,42 (1H, d), 7,51 (2H, m), 7,55-7,67 (3H, superponiéndose sobre m), 11,02 (1H, s), 12,27 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etil)(metoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

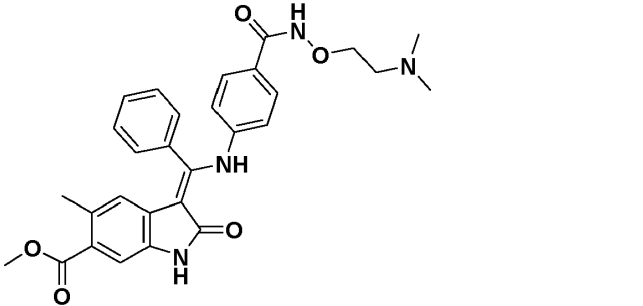
Ejemplo 24:

	<p>T^a 1,55 min (Método 1); m/z 513 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,33 (3H, s), 2,59-2,61 (2H, superponiéndose sobre m), 2,68-2,71 (2H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,74-3,79 (4H, superponiéndose sobre m), 5,87 (1H, d), 6,85 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,37-7,45 (3H, superponiéndose sobre m), 7,51 (2H, m), 7,56-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 11,00 (1H, s), 12,29 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(5-metil-1,2,5-oxadiazepano-2-carbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

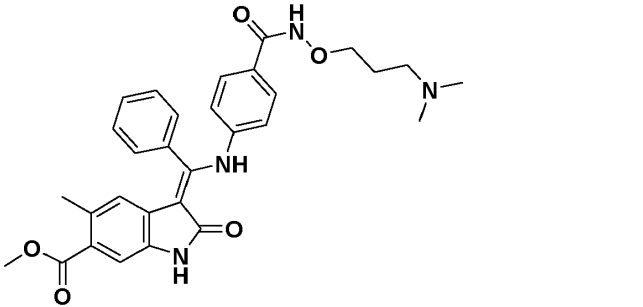
5 Ejemplo 25:

	<p>T^a 1,70 min (Método 1); m/z 606 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,30-2,48 (6H, superponiéndose sobre m), 2,67 (3H, s), 3,78 (3H, s), 4,00 (2H, t), 5,90 (1H, d), 6,96 (2H, m), 7,23 (1H, dd), 7,43 (1H, d), 7,58 (2H, m), 7,61-7,75 (5H, superponiéndose sobre m), 11,09 (1H, s), 12,37 (1H, s). (Falta 7H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(N-metil-N(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1A</p>	

Ejemplo 26:

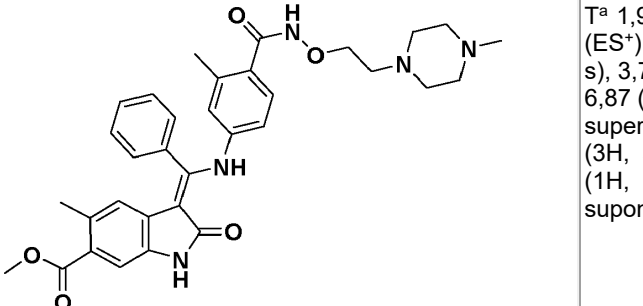
	<p>T^a 1,95 min (Método 1); m/z 515 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,13 (3H, s), 2,17 (3H, s), 2,53 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,93 (2H, t), 5,58 (1H, s), 6,58 (1H, dd), 6,79 (1H, d), 7,08 (1H, d), 7,36 (1H, s), 7,52 (2H, m), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 11,31 (1H, s), 12,19 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5 Ejemplo 27:

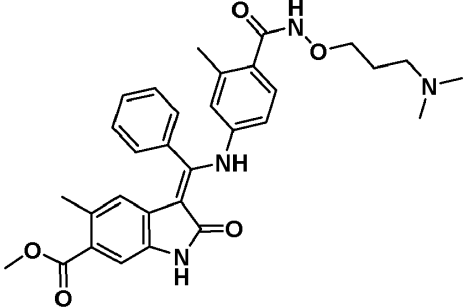
	<p>T^a 2,00 min (Método 1); m/z 529 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,70 (2H, m), 2,09-2,18 (9H, superponiéndose sobre m), 2,34 (2H, t), 3,75 (3H, s), 3,84 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,88 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,48-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 10,88 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 28:

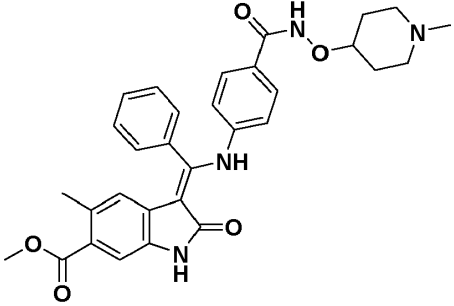
10

	<p>T^a 1,93 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,18 (6H, s), 3,75 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s), (Falta 10H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((3-metil-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 29:

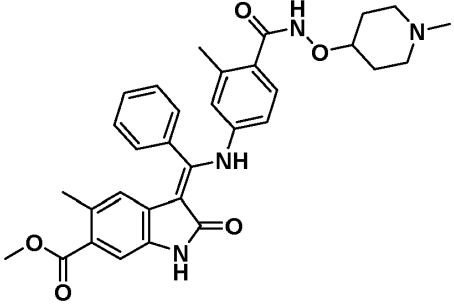
	<p>T^a 2,02 min (Método 1); m/z 543 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,69 (2H, m), 2,12 (6H, s), 2,13 (3H, s), 2,16 (3H, s), 2,31 (2H, t), 3,75 (3H, s), 3,85 (2H, t), 5,58 (1H, s), 6,59 (1H, dd), 6,79 (1H, d), 7,07 (1H, d), 7,36 (1H, s), 7,52 (2H, dd), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,18 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((4-((3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5 Ejemplo 30:

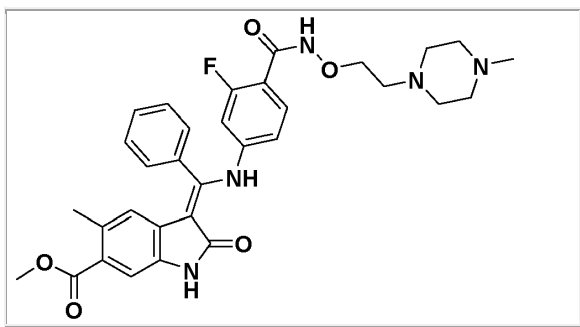
	<p>T^a 1,96 min (Método 1); m/z 541 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,49-1,61 (2H, superponiéndose sobre m), 1,78-1,87 (2H, superponiéndose sobre m), 1,96-2,06 (2H, superponiéndose sobre m), 2,13 (6H, s), 2,55-2,64 (2H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,82 (1H, m), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 11,36 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((4-((1-metipiperidina-4-il)oxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 31:

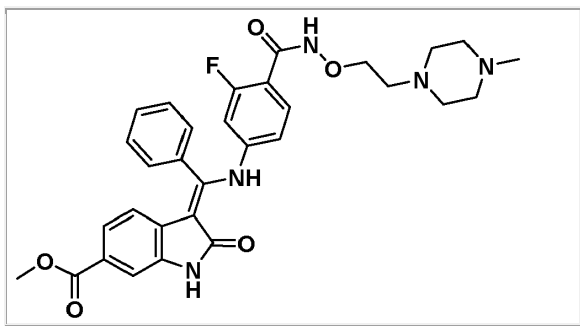
10

	<p>T^a 1,99 min (Método 1); m/z 555 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,50-1,62 (2H, superponiéndose sobre m), 1,77-1,89 (2H, superponiéndose sobre m), 1,97-2,07 (2H, superponiéndose sobre m), 2,10-2,18 (9H, superponiéndose sobre m), 2,53-2,63 (2H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,82 (1H, m), 5,58 (1H, s), 6,58 (1H, dd), 6,79 (1H, d), 7,08 (1H, d), 7,36 (1H, s), 7,52 (2H, m), 7,57-7,71 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 11,13 (1H, s), 12,19 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((3-metil-4-((1-metilpiperidina-4-il)oxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

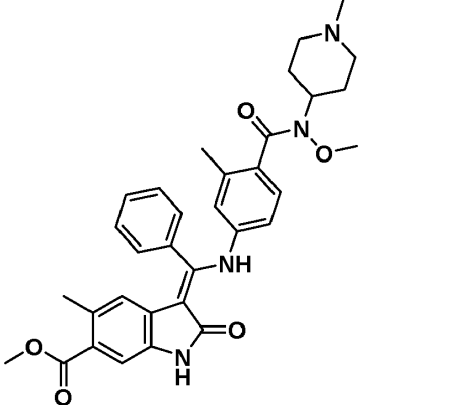
Ejemplo 32:

	<p>T^a 1,86 min (Método 1); m/z 588 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,10-2,15 (6H, superponiéndose sobre m), 2,19-2,46 (8H, superponiéndose sobre m), 2,52-2,55 (2H, superponiéndose sobre m), 3,76 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,63 (1H, s), 6,59 (1H, dd), 6,77 (1H, dd), 7,36 (1H, s), 7,40 (1H, t), 7,51-7,59 (2H, superponiéndose sobre m), 7,61-7,72 (3H, superponiéndose sobre m), 10,92 (1H, s), 12,15 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((3-fluoro-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

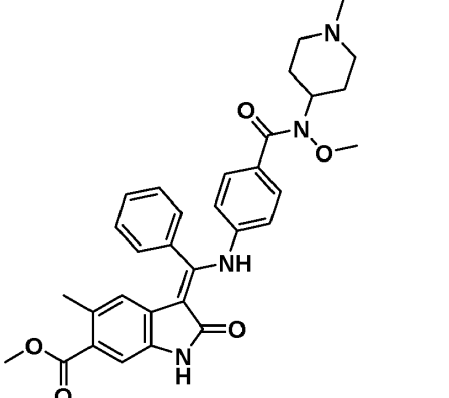
5 Ejemplo 33:

	<p>T^a 1,73 min (Método 1); m/z 574 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,16-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 2,51-2,56 (2H, superponiéndose sobre m), 3,78 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,89 (1H, d), 6,57 (1H, d), 6,76 (1H, d), 7,22 (1H, dd), 7,35-7,44 (2H, superponiéndose sobre m), 7,51-7,58 (2H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 11,06 (1H, s), 12,21 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((3-fluoro-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

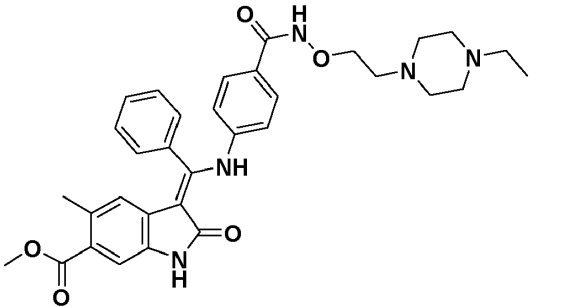
Ejemplo 34:

	<p>T^a 1,69 min (Método 1); m/z 569 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,57-1,69 (2H, superponiéndose sobre m), 1,74-1,89 (4H, superponiéndose sobre m), 2,06 (3H, s), 2,10-2,18 (6H, superponiéndose sobre m), 2,73-2,84 (2H, superponiéndose sobre m), 3,35-3,45 (3H, br s), 3,75 (3H, s), 5,64 (1H, s), 6,63 (1H, d), 6,83 (1H, s), 7,01 (1H, d), 7,36 (1H, s), 7,49 (2H, m), 7,54-7,67 (3H, superponiéndose sobre m), 10,85 (1H, s), 12,13 (1H, s). (Falta 1H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-yl)carbamoyl)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5 Ejemplo 35:

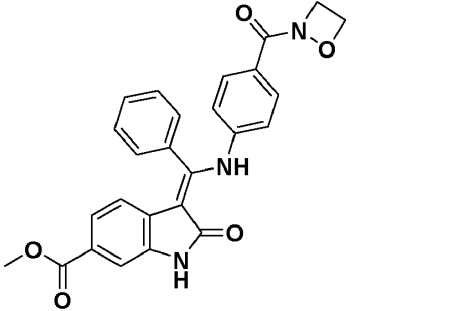
	<p>T^a 1,67 min (Método 1); m/z 555 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,61-1,69 (2H, superponiéndose sobre m), 1,74-1,89 (4H, superponiéndose sobre m), 2,13 (3H, s), 2,14 (3H, s), 2,74-2,83 (2H, superponiéndose sobre m), 3,45 (3H, s), 3,75 (3H, s), 3,85 (1H, m), 5,64 (1H, s), 6,89 (2H, d), 7,31-7,39 (3H, superponiéndose sobre m), 7,51 (2H, m), 7,56-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,20 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-yl)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 36:

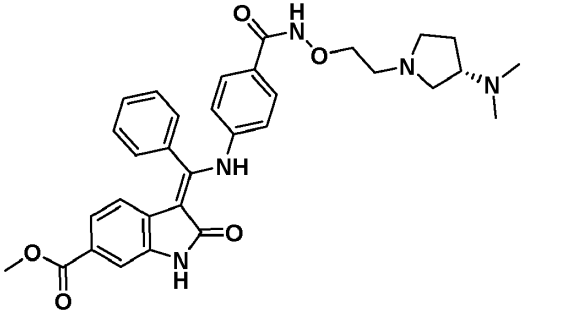
	<p>T^a 1,54 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 0,97 (3H, m), 2,13 (3H, s), 2,22-2,48 (10H, superponiéndose sobre m), 2,54 (2H, t), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 11,57 (1H, br s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-etilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5

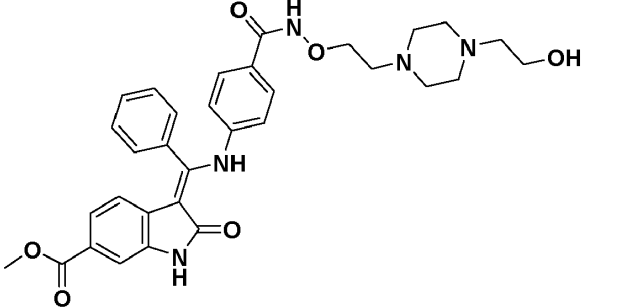
Ejemplo 37:

	<p>T^a 2,35 min (Método 1); m/z 456 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 3,77 (3H, s), 4,05-4,12 (2H, superponiéndose sobre m), 4,40-4,47 (2H, superponiéndose sobre m), 5,88 (1H, d), 6,85 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,39-7,54 (5H, superponiéndose sobre m), 7,55-7,66 (3H, superponiéndose sobre m), 11,02 (1H, s), 12,26 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(1,2-oxazetidina-2-carbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

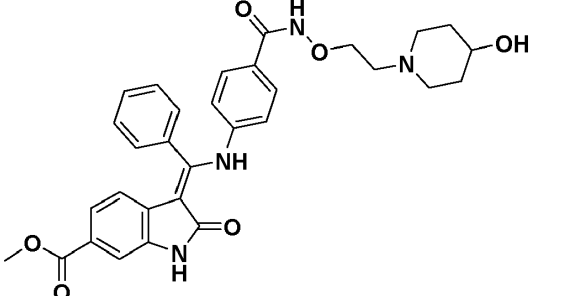
10 Ejemplo 38:

	<p>T^a 1,30 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,60 (1H, m), 1,83 (1H, m), 2,13 (6H, s), 2,36 (1H, m), 2,57-2,79 (6H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 11,04 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(S,Z)-metil 3-(((4-((2-(3-(dimetilamino)pirrolidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

Ejemplo 39:

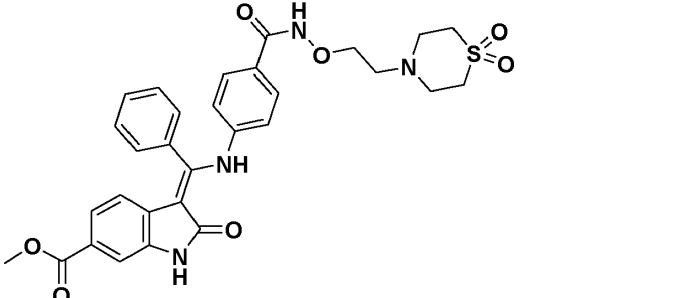
	<p>T^a 1,41 min (Método 1); m/z 586 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,30-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 2,53 (2H, m), 3,47 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 8,23 (1H, s), 11,04 (1H, s), 12,28 (1H, s). (Falta 2H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxiethyl)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

5 Ejemplo 40:

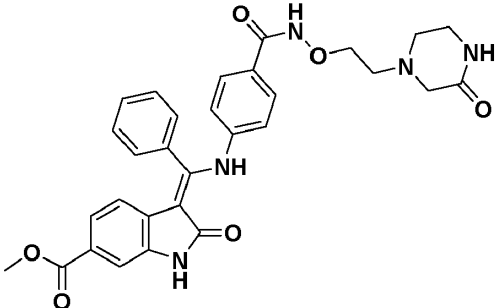
	<p>T^a 1,59 min (Método 1); m/z 557 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,27-1,44 (2H, superponiéndose sobre m), 1,60-1,76 (2H, superponiéndose sobre m), 2,00-2,19 (2H, superponiéndose sobre m), 2,54-2,58 (2H, superponiéndose sobre m), 2,71-2,81 (2H, superponiéndose sobre m), 3,43 (1H, m), 3,61 (1H, m), 3,77 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,86 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,48-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,56-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-hidroxi piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

Ejemplo 41:

10

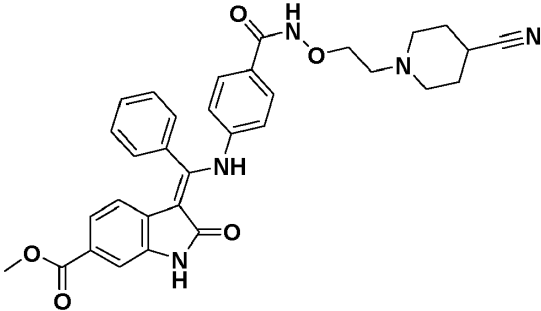
	<p>T^a 1,75 min (Método 1); m/z 591 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,82-2,89 (2H, m), 3,05-3,17 (8H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,97 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,87 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,50-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 11,63 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(1,1-dioxidomorfolino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

Ejemplo 42:

	<p>T^a 1,47 min (Método 1); m/z 556 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,60-2,67 (4H, superponiéndose sobre m), 3,02 (2H, s), 3,09-3,17 (2H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,95 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 7,69-7,75 (1H, m), 11,03 (1H, s), 11,58 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 2-oxo-3-(((4-((2-(3-oxopiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)indolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

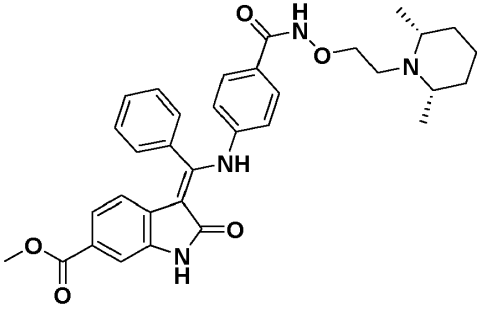
5

Ejemplo 43:

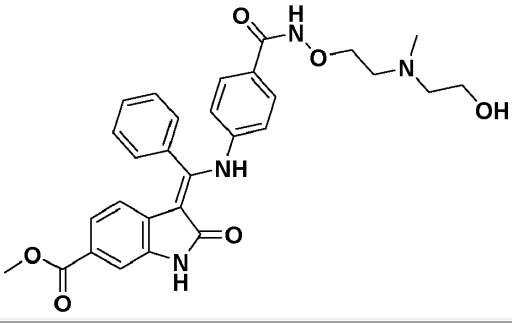
	<p>T^a 1,55 min (Método 1); m/z 566 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,59-2,00 (4H, superponiéndose sobre d), 2,52-2,96 (6H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,98 (2H, m), 5,87 (1H, d), 6,87 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,49-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 8,13 (0,5H, s), 11,02 (1H, d), 12,28 (1H, s). (Falta 1H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-cianopiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato, hemiformato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

10

Ejemplo 44:

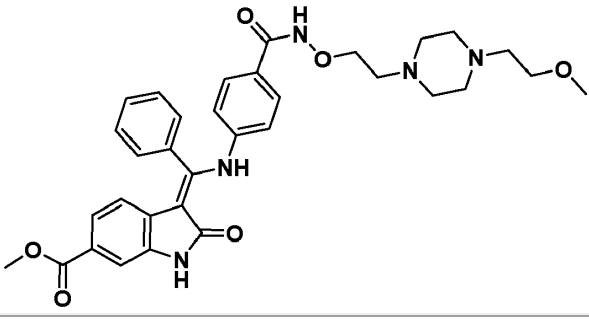
	<p>T^a 1,59 min (Método 1); m/z 569 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ (mezcla de isómeros en rotación): 0,80 y 0,87 (3H, 2 x d), 0,92-1,67 (9H, superponiéndose sobre m), 1,74-1,98 (2H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 5,85 y 5,89 (1H, 2 x d), 6,83 (2H, d), 6,92-7,19 (1H, m), 7,06 (1H, m), 7,43 (2H, m), 7,52 (2H, m), 7,54-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,45 (1H, s), 11,03 (1H, m), 12,28 (1H, m). (Falta 4H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-((2S,6R)-2,6-dimetilpiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

Ejemplo 45:

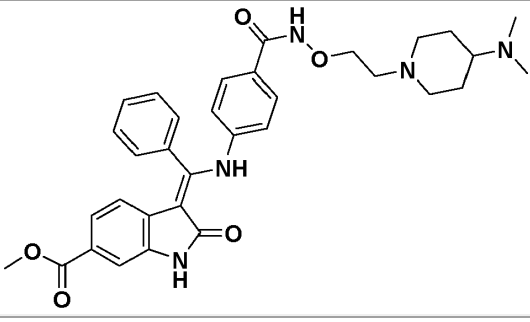
	<p>T^a 1,40 min (Método 1); m/z 531 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,22 (3H, s), 2,45 (2H, t), 2,62 (2H, t), 3,45 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,20 (1H, m), 7,42 (1H, d), 7,47-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 8,32 (1H, s), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil-3-(((4-((2-((2- hidroxiethyl)(metil)amino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)- 2-oxindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

5

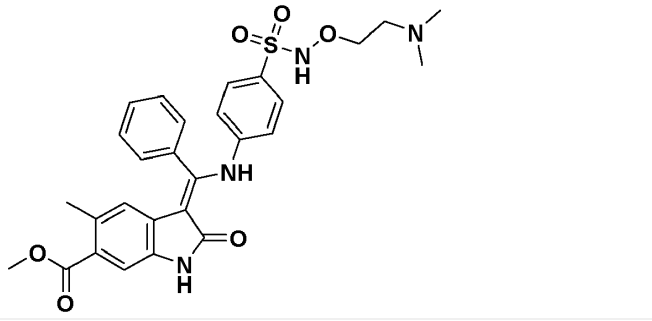
Ejemplo 46:

	<p>T^a 1,44 min (Método 1); m/z 600 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,31-2,47 (8H, superponiéndose sobre m), 2,51-2,56 (2H, superponiéndose sobre m), 3,22 (3H, s), 3,40 (2H, t), 3,77 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,86 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,48-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,56- 7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 8,19 (1H, s), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s). (Falta 2H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-((4-(2-metoxietil) piperazina-1- il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2- oxindolina-6-carboxilato, formato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

10 Ejemplo 47:

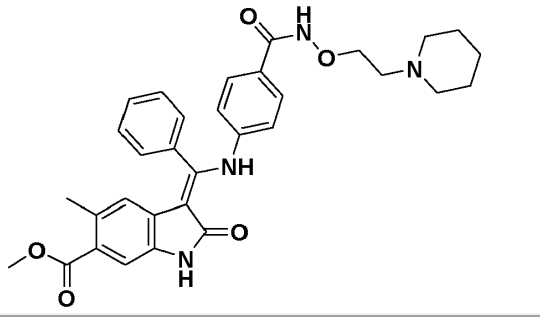
	<p>T^a 1,20 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,25-1,45 (2H, superponiéndose sobre m), 1,68-1,78 (2H, superponiéndose sobre m), 1,88- 2,03 (2H, superponiéndose sobre m), 2,27 (6H, s), 2,51-2,59 (3H, superponiéndose sobre m), 2,92-2,99 (2H, superponiéndose sobre m), 3,77 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,86 (1H, d), 6,85 (2H, m), 7,20 (1H, dd), 7,42 (1H, m), 7,49-7,68 (7H, superponiéndose sobre m), 8,22 (1H, s), 11,04 (1H, s), 12,28 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-((4-(dimetilamino) piperidina-1- il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2- oxindolina-6-carboxilato, formato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

Ejemplo 48:

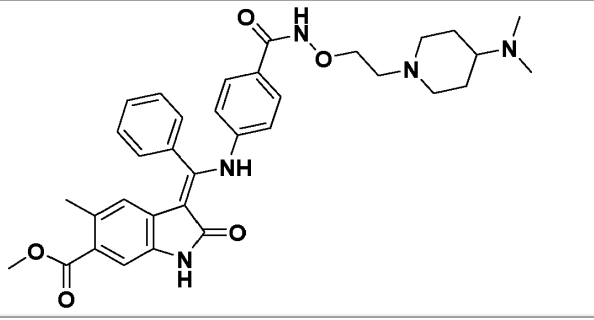
	T ^a 1,65 min (Método 1); m/z 551 (M+H) ⁺ (ES ⁺); RMN ¹ H δ: 2,09 (6H, s), 2,14 (3H, s), 2,39 (2H, t), 3,76 (3H, s), 3,89 (2H, t), 5,64 (1H, s), 6,96 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,52-7,73 (7H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 10,94 (1H, s), 12,25 (1H, s).
(Z)-metil 3-(((4-(N-(2-(dimetilamino)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato	
Código de ruta*: 1A	

5

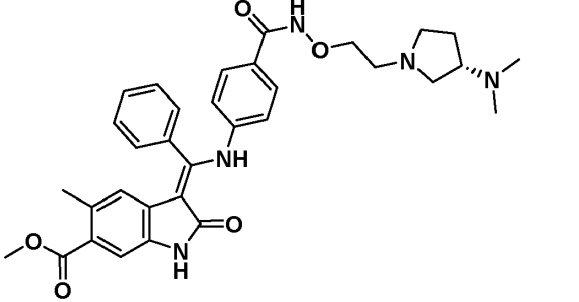
Ejemplo 49:

	T ^a 1,73 min (Método 1); m/z 555 (M+H) ⁺ (ES ⁺); RMN ¹ H δ: 1,33-1,39 (2H, superponiéndose sobre m), 1,42-1,52 (4H, superponiéndose sobre m), 2,13 (3H, s), 2,34-2,44 (4H, superponiéndose sobre m), 2,53 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,21 (1H, s).
(Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil((4-((2-(piperidina-1-il)etoxi) carbamoil)fenil)amino) metileno)indolina-6-carboxilato	
Código de ruta*: 1C	

10 Ejemplo 50:

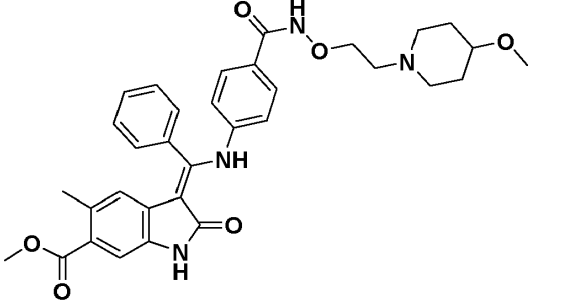
	T ^a 1,33 min (Método 1); m/z 598 (M+H) ⁺ (ES ⁺); RMN ¹ H δ: 1,30-1,43 (2H, superponiéndose sobre m), 1,68-1,76 (2H, superponiéndose sobre m), 1,89-2,01 (2H, superponiéndose sobre m), 2,10-2,19 (5H, superponiéndose sobre m), 2,22 (6H, s), 2,90-2,98 (2H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,22 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s). (Falta 1H, se supone oculto por el disolvente).
(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(dimetilamino) piperidina-1-il)etoxi) carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato	
Código de ruta*: 1C	

Ejemplo 51:

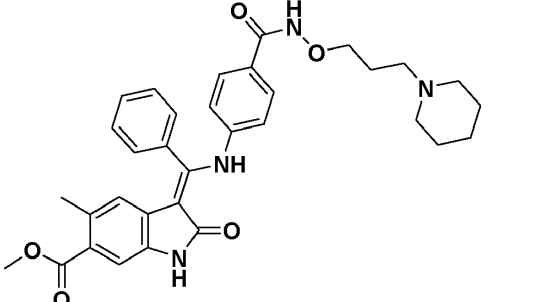
	<p>T^a 1,32 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,59 (1H, m), 1,82 (1H, m), 2,08-2,17 (9H, superponiéndose sobre m), 2,35 (1H, m), 2,55-2,79 (5H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 8,20 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s). (Falta 1H, se supone oculto por el disolvente).</p>
<p>(S,Z)-metil 3-(((4-((2-(3-(dimetilamino)pirrolidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

5

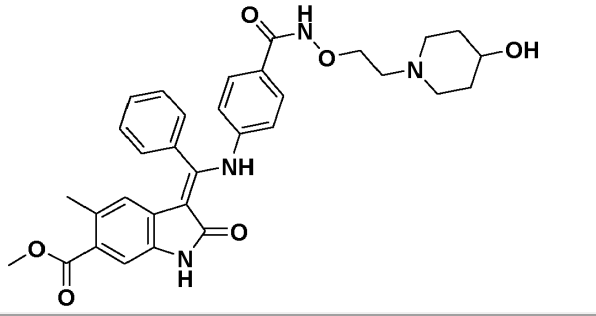
Ejemplo 52:

	<p>T^a 2,05 min (Método 2); m/z 585 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,30-1,43 (2H, superponiéndose sobre m), 1,75-1,83 (2H, superponiéndose sobre m), 2,06-2,16 (5H, superponiéndose sobre m), 2,53 (1H, m), 2,68-2,76 (2H, superponiéndose sobre m), 3,07-3,17 (2H, superponiéndose sobre m), 3,21 (3H, s), 3,75 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,34 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,21 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metoxipiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

10 Ejemplo 53:

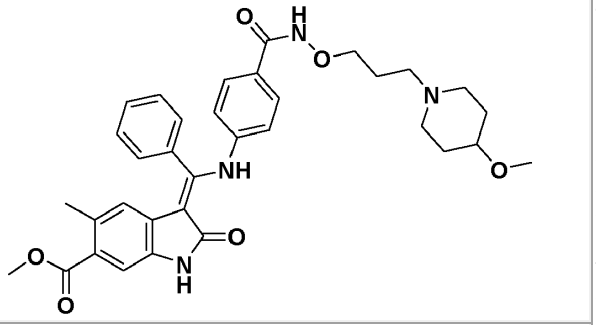
	<p>T^a 1,77 min (Método 1); m/z 569 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ 1,32-1,41 (2H, superponiéndose sobre m), 1,43-1,53 (4H, superponiéndose sobre m), 1,72 (2H, m), 2,14 (3H, s), 2,26-2,40 (6H, superponiéndose sobre m), 3,76 (3H, s), 3,85 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,88 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,48-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,59-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil((4-((3-(piperidina-1-il)propoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

Ejemplo 54:

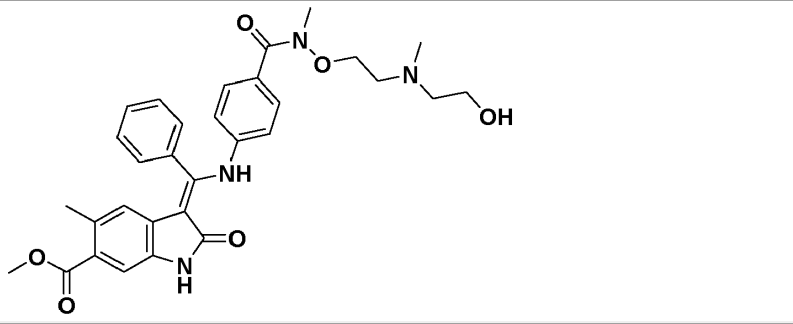
	<p>T^a 1,60 min (Método 1); m/z 571 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,27-1,40 (2H, superponiéndose sobre m), 1,48 (1H, m), 1,60-1,70 (2H, superponiéndose sobre m), 1,81 (1H, m), 2,07 (1H, superponiéndose sobre m), 2,13 (3H, s), 2,70-2,84 (2H, superponiéndose sobre m), 3,10 (1H, m), 3,41 (1H, m), 3,67 (1H, m), 3,76 (3H, s), 3,91 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,85 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,47-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,67 (3H, superponiéndose sobre m), 8,31 (2H, s), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-hidroxi-piperidina-1-il)etoxi)carbamoi)l)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, formato</p>	
<p>Código de ruta*: 1C</p>	

5

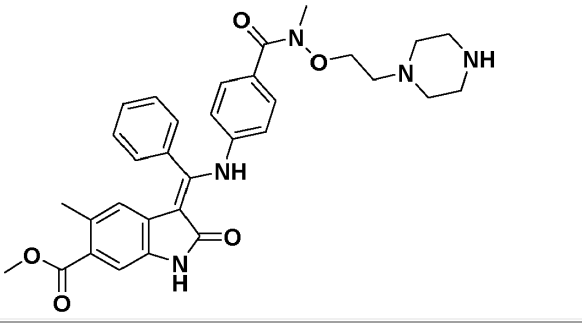
Ejemplo 55:

	<p>T^a 1,74 min (Método 1); m/z 599 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,31-1,43 (2H, superponiéndose sobre m), 1,70 (2H, m), 1,76-1,83 (2H, superponiéndose sobre m), 1,96-2,09 (2H, superponiéndose sobre m), 2,14 (3H, s), 2,36 (2H, t), 2,60-2,70 (2H, superponiéndose sobre m), 3,14 (1H, m), 3,22 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,84 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,88 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,48-7,57 (4H, superponiéndose sobre m), 7,59-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((3-(4-metoxipiperidina-1-il)propoxi)carbamoi)l)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

10 Ejemplo 56:

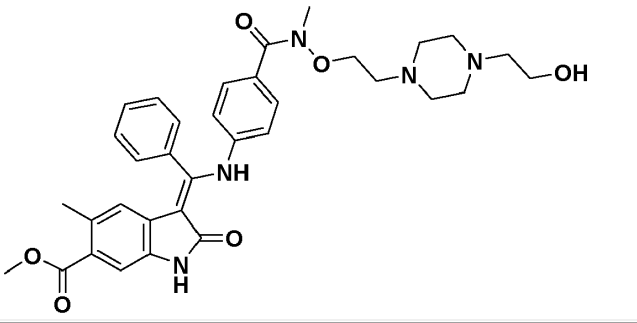
	<p>T^a 1,61 min (Método 1); m/z 559 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,06 (3H, s), 2,14 (3H, s), 2,32-2,38 (4H, superponiéndose sobre m), 3,22 (3H, s), 3,39 (2H, m), 3,76 (2H, m), 3,76 (3H, s), 4,26 (1H, m), 5,62 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,44 (2H, m), 7,52 (2H, m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,84 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-((2-hidroxi)etil)(metil)amino)etoxi)(metil)carbamoi)l)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1D</p>	

Ejemplo 57:

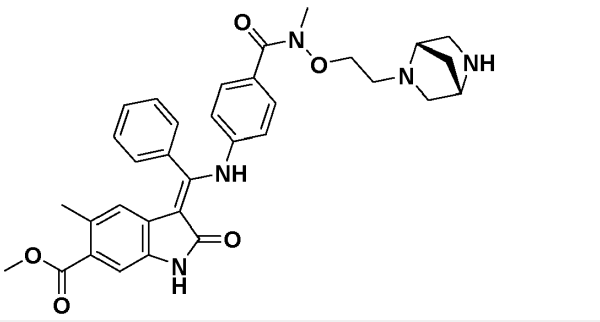
	<p>T^a 1,51 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,14 (3H, s), 2,26-2,34 (6H, superponiéndose sobre m), 2,77-2,79 (4H, superponiéndose sobre m), 3,21 (3H, s), 3,75 (3H, s), 3,79 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,43 (2H, m) 7,52 (2H, m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoyl)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1D</p>	

5

Ejemplo 58:

	<p>T^a 1,56 min (Método 1); m/z 614 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,14 (s, 3H), 2,17-2,44 (12H, superponiéndose sobre m), 3,21 (3H, s), 3,48 (2H, m), 3,70-3,83 (5H, superponiéndose sobre m), 4,36 (1H, m), 5,62 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,42 (2H, m), 7,52 (2H m), 7,56-7,69 (3H superponiéndose sobre m), 10,88 (1H, s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxi)etil)piperazina-1-il)etoxi)(metil)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1D</p>	

10 Ejemplo 59:

	<p>T^a 1,42 min (Método 1); m/z 582 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,38 (1H, m), 1,53 (1H, m), 2,14 (3H, s), 2,21 (1H, m), 2,42-2,54 (2H, superponiéndose sobre m), 2,58-2,70 (2H, superponiéndose sobre m), 2,85 (1H, m), 3,18 (1H, m), 3,21 (3H, s), 3,44 (1H, m), 3,70 (2H, t), 3,75 (3H, s), 5,61 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,45 (2H, m), 7,53 (2H m), 7,57-7,68 (3H superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,22 (1H, br. s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-((1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il)etoxi)(metil)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p> <p>Código de ruta*: 1D</p>	

Ejemplo 60:

	<p>T^a 1,47 min (Método 1); m/z 596 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,56-1,65 (2H, superponiéndose sobre m), 1,66-1,75 (2H, superponiéndose sobre m), 2,13 (3H, s), 2,22 (2H, t), 2,64-2,70 (2H, superponiéndose sobre m), 2,89-2,94 (2H, superponiéndose sobre m), 3,22 (3H, s), 3,72-3,78 (5H, superponiéndose sobre m), 5,60 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,45 (2H, m), 7,53 (2H, m), 7,57-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 10,88 (1H, s), 12,23 (1H, s), (Falta 2H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-8-yl)etoxy)(methyl)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1D</p>	

5

Ejemplo 61:

	<p>T^a 1,65 min (Método 1); m/z 596 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,57-1,67 (4H, superponiéndose sobre m), 2,04-2,10 (2H, superponiéndose sobre m), 2,14 (3H, s), 2,27 (2H, t), 2,45-2,48 (2H, superponiéndose sobre m), 3,21 (3H, s), 3,39-3,45 (2H, superponiéndose sobre m), 3,74 (2H, t), 3,75 (3H, s), 5,62 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,32-7,42 (3H, superponiéndose sobre m), 7,52 (2H, m), 7,56-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,21 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-((2-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-3-yl)etoxy)(methyl)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1D</p>	

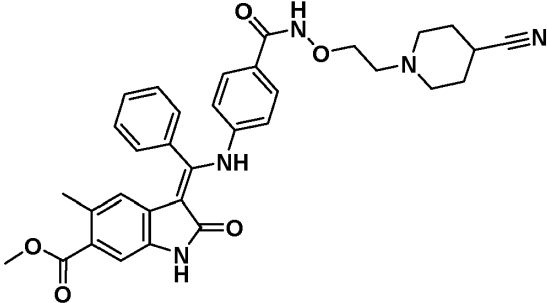
10

Ejemplo 62:

	<p>T^a 1,56 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 0,88 (3H, d), 1,43 (1H, m), 1,75 (1H, m), 2,13 (3H, s), 2,25 (2H, t), 2,73 (1H, m), 3,21 (3H, s), 3,71-3,83 (5H, superponiéndose sobre m), 5,61 (1H, s), 6,85 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,44 (2H, m), 7,53 (2H, m), 7,56-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,24 (1H, s), (Falta 4H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
<p>(S,Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(3-metilpiperazina-1-yl)etoxy)carbamoyl)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	

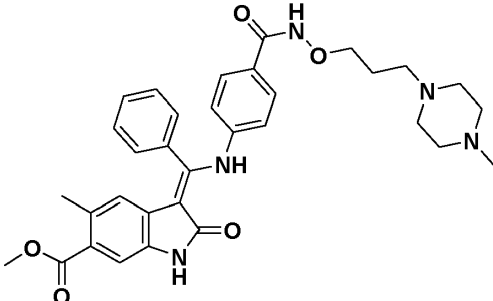
Código de ruta*: 1D	
---------------------	--

Ejemplo 63:

	<p>T^a 1,70 min (Método 1); m/z 580 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,60-1,72 (2H, superponiéndose sobre m), 1,77-1,87 (2H, superponiéndose sobre m), 2,13 (3H, s), 2,32 (2H, m), 2,52-2,63 (4H, superponiéndose sobre m), 2,83 (1H, m), 3,75 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,49-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,68 (3H, superponiéndose sobre m), 8,15 (0,4H, s), 10,88 (1H, s), 12,21 (1H, s).</p>
(Z)-metil 3-(((4-((2-(4-hidroxipiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato, 0,4 formato	
Código de ruta*: 1C	

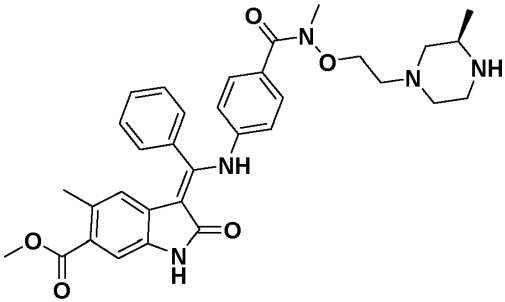
5

Ejemplo 64:

	<p>T^a 1,42 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,70 (2H, m), 2,13 (6H, s), 2,21-2,42 (10H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,84 (2H, t), 5,61 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,48-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (3H,</p>
(Z)-metil 5-metil-3-(((4-((3-(4-metilpiperazina-1-il)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato	superponiéndose sobre m), 10,88 (1H, s), 12,22 (1H, s).
Código de ruta*: 1B	

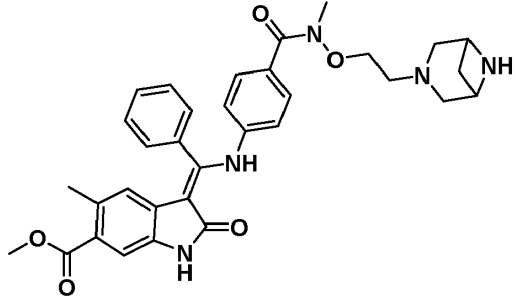
10

Ejemplo 65:

	<p>T^a 1,54 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 0,88 (3H, d), 1,43 (1H, m), 1,75 (1H, m), 2,13 (3H, s), 2,24 (2H, t), 2,51-2,60 (2H, superponiéndose sobre m), 2,72 (1H, m), 3,21 (3H, s), 3,72-3,83 (5H, superponiéndose sobre m), 5,61 (1H, s), 6,84 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,44 (2H, m), 7,53 (2H, m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,24 (1H, s), (Falta 2H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
(R,Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(3-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato	

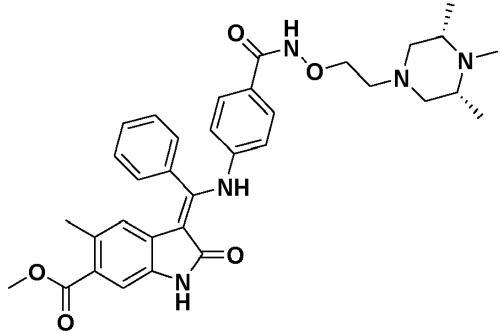
Código de ruta*: 1D	
---------------------	--

Ejemplo 66:

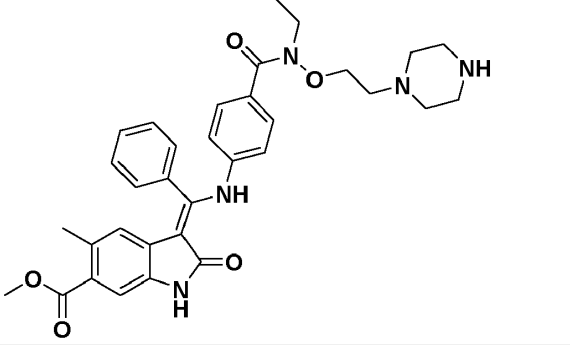
	<p>T^a 1,57 min (Método 1); m/z 582 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,70 (1H, m), 2,14 (3H, s), 2,25 (1H, m), 2,51-2,57 (3H, superponiéndose sobre m), 2,79-2,87 (2H, superponiéndose sobre m), 3,23 (3H, s), 3,42-3,48 (2H, superponiéndose sobre m), 3,75 (3H, s), 3,81 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,83 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,42 (2H, m), 7,53 (2H, m), 7,57-7,69 (3H, superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,17 (1H, s). (Falta 1 h, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
(Z)-metil 3-(((4-((2-(3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-yl)etoxy)(methyl)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato	
Código de ruta*: 1D	

5

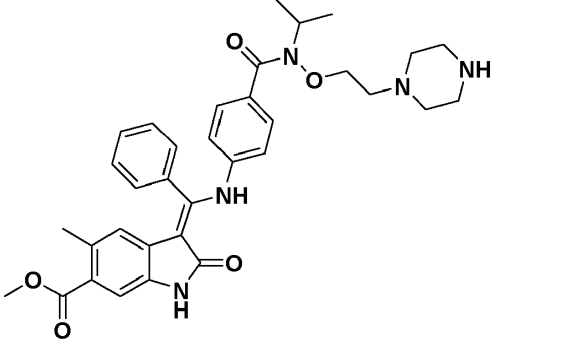
Ejemplo 67:

	<p>T^a 2,05 min (Método 1); m/z 598 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 0,95 (6H, d), 1,77 (2H, t), 2,04-2,17 (8H, superponiéndose sobre m), 2,76 (2H, m), 3,76 (3H, s), 3,92 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,88 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,49-7,58 (4H, superponiéndose sobre m), 7,58-7,70 (3H, superponiéndose sobre m), 8,25 (1H, s), 10,89 (1H, s), 12,22 (1H, s). (Falta 2H, se supone superpuesto sobre el disolvente).</p>
(Z)-Metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil((4-((2-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazina-1-yl)etoxy) carbamoyl)fenil)amino) metileno)indolina-6-carboxilato	
Código de ruta*: 1C	

Ejemplo 68:

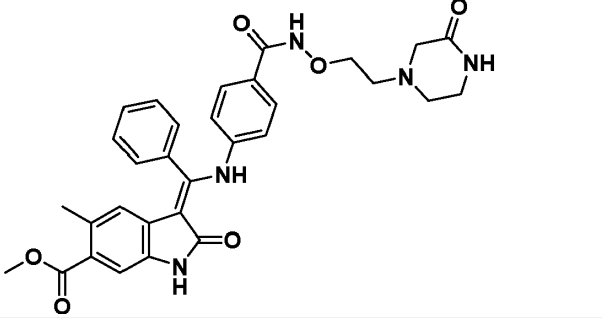
	<p>T^a 1,57 min (Método 1); m/z 584 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,13 (3H, t), 2,13 (3H, s), 2,16-2,24 (4H, superponiéndose sobre m), 2,27 (2H, s), 2,60-2,68 (4H, superponiéndose sobre m), 3,64 (2H, m), 3,73-3,78 (5H, superponiéndose sobre m), 5,61 (1H, s), 6,86 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,41 (2H, m), 7,52 (2H, m), 7,57-7,69 (3H superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,24 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(etil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Código de ruta*: 1B</p>	

5 Ejemplo 69:

	<p>T^a 1,59 min (Método 1); m/z 598 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 1,18 (6H, d), 2,14 (3H, s), 2,16-2,25 (4H, superponiéndose sobre m), 2,26 (2H, t), 2,60-2,69 (4H, superponiéndose sobre m), 3,71 (2H, t), 3,75 (3H, s), 4,30 (1H, s), 5,61 (1H, s), 6,87 (2H, m), 7,29-7,39 (3H, superponiéndose sobre m), 7,53 (2H, m), 7,56-7,69 (3H superponiéndose sobre m), 10,87 (1H, s), 12,23 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 3-(((4-(isopropil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Ruta* : 1B</p>	

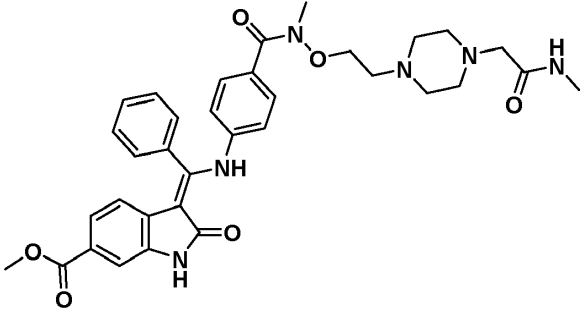
Ejemplo 70

10

	<p>T^a 1,61 min (Método 1); m/z 570 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,13 (3H, s), 2,59-2,67 (4H, superponiéndose sobre m), 3,02 (2H, br s), 3,13 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,95 (2H, m), 5,62 (1H, s), 6,88 (2H, m), 7,36 (1H, s), 7,51-7,56 (4H, superponiéndose sobre m), 7,59-7,69 (3H, superpuesto sobre m), 7,72 (1H, br s), 10,89 (1H, s), 11,58 (1H, br s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(((4-((2-(3-oxopiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)indolina-6-carboxilato</p>	

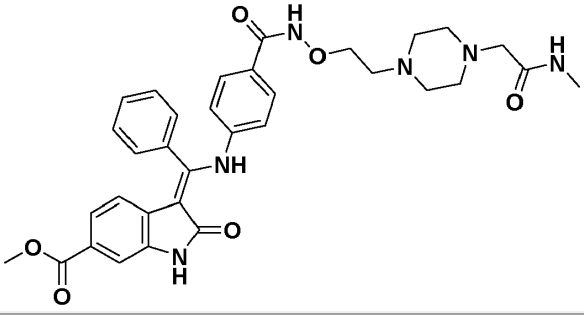
Ruta*: 1C	
-----------	--

Ejemplo 71:

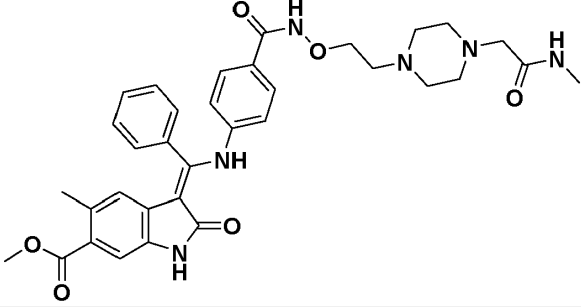
	T ^a 1,56 min (Método 1); m/z 627 (M+H) ⁺ (ES ⁺); RMN ¹ H δ: 2,24-2,36 (10H, superponiéndose sobre m), 2,59 (3H, d), 2,87 (2H, s), 3,21 (3H, s), 3,75-3,80 (5H, superponiéndose sobre m), 5,87 (1H, d), 6,85 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,40-7,44 (3H, superponiéndose sobre m), 7,51-7,55 (3H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,67 (3H, superponiéndose sobre m), 11,03 (1H, s), 12,28 (1H, s).
(Z)-metil 3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato	
Ruta*: 1D	

5

Ejemplo 72

	T ^a 1,52 min (Método 1); m/z 613 (M+H) ⁺ (ES ⁺); RMN ¹ H δ: 2,35-2,58 (10H, superponiéndose sobre m), 2,60 (3H, d), 2,86 (2H, br s), 3,77 (3H, s), 3,93 (2H, t), 5,87 (1H, d), 6,87 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 7,42 (1H, d), 7,51-7,55 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (4H, superponiéndose sobre m), 11,04 (1H, s), 11,56 (1H, br s), 12,28 (1H, s).
(Z)-metil 3-(((4-(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoyl)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato	
Ruta*: 1C	

Ejemplo 73

	<p>Ta 1,57 min (Método 1); m/z 627 (M+H)⁺ (ES⁺); RMN ¹H δ: 2,14 (3H, s), 2,34-2,54 (8H, superponiéndose sobre m), 2,55 (2H, t), 2,60 (3H, superponiéndose sobre m), 2,70 (2H, s), 3,76 (3H, s), 3,94 (2H, t), 5,62 (1H, s), 6,38 (2H, m), 7,37 (1H, s), 7,50-7,55 (4H, superponiéndose sobre m), 7,57-7,68 (4H, superponiéndose sobre m), 10,90 (1H, s), 11,56 (1H, br s), 12,22 (1H, s).</p>
<p>(Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato</p>	
<p>Ruta*: 1C</p>	

5 Ensayos biológicos: procedimientos experimentales

Ensayos de inhibición enzimática

Las actividades inhibitorias enzimáticas de los compuestos que se describen en esta solicitud se determinaron mediante el ensayo ADP-Glo™ (Promega, Reino Unido). Los ensayos para FGFR1, PDGFRα, PDGFRβ y VEGFR2 se realizaron en un tampón que contenía 40 mM Tris pH 7,5, 20 mM MgCl₂, 0,1 mg/mL BSA y 1 mM DTT; mientras que los ensayos para FGFR3 y VEGFR1 se realizaron en el tampón anterior complementado con 2 mM MnCl₂.

Inhibición enzimática de FGFR1

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente a FGFR1 (FGFR1 Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína FGFR1 (3,12 ng/mL, 2 μL), sustrato (Poly (4:1 Glu₄, Tyr₁), 100 ng/mL, 2 μL) con el compuesto de ensayo (2 μL a 3 μM, 0,67 μM, 0,15 μM, 0,033 μM, 0,0073 μM, 0,0016 μM, 0,0036 μM o 0,00008 μM) durante 90 min a 25°C. A continuación, se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (50 μM, 2 μL) y la mezcla se incubó durante 1 hora a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μL) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μL) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

Inhibición enzimática de FGFR3

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente a FGFR3 (FGFR3 Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína FGFR3 (12,5 ng/mL, 2 μL), sustrato (Poly (Ala₆, Glu₂, Lys₅, Tyr₁), 100 ng/mL, 2 μL) con el compuesto de ensayo (2 μL a 3 μM, 0,67 μM, 0,15 μM, 0,033 μM, 0,0073 μM, 0,0016 μM, 0,0036 μM o 0,00008 μM) durante 90 min a 25°C. Se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (50 μM, 2 μL) y la mezcla se incubó durante 90 min a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μL) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μL) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

Inhibición enzimática de PDGFRα

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente a PDGFRα (PDGFRα Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína PDGFRα (12,5 ng/mL, 2 μL), sustrato (Poly (4:1 Glu₄, Tyr₁), 100 ng/mL, 2 μL) con el compuesto de ensayo (2 μL a 3 μM, 0,67 μM, 0,15 μM, 0,033 μM, 0,0073 μM, 0,0016 μM, 0,0036 μM o 0,00008 μM) durante 90 min a 25°C. Se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (25 μM, 2 μL) y la mezcla se incubó durante 1 hora a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μL) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μL) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

Inhibición enzimática de PDGFRβ

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente PDGFR β (PDGFR β Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína PDGFR β (6,25 ng/mL, 2 μ L), sustrato (Poly (4:1 Glu₄, Tyr₁), 100 ng/mL, 2 μ L) con el compuesto de ensayo (2 μ L a 3 μ M, 0,67 μ M, 0,15 μ M, 0,033 μ M, 0,0073 μ M, 0,0016 μ M, 0,0036 μ M o 0,00008 μ M) durante 90 min a 25°C. Se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (25 μ M, 2 μ L) y la mezcla se incubó durante 1 hora a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μ L) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μ L) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

10 Inhibición enzimática de VEGFR1

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente a VEGFR1 (VEGFR1 Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína VEGFR1 (12,5 ng/mL, 2 μ L), sustrato (IGFR1Rtide, 100 ng/mL, 2 μ L) con el compuesto de ensayo (2 μ L a 3 μ M, 0,67 μ M, 0,15 μ M, 0,033 μ M, 0,0073 μ M, 0,0016 μ M, 0,0036 μ M o 0,00008 μ M) durante 90 min a 25°C. Se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (50 μ M, 2 μ L) y la mezcla se incubó durante 90 min a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μ L) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μ L) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

20 Inhibición enzimática de VEGFR2

Las actividades inhibitorias de los compuestos de la invención frente a VEGFR2 (VEGFR2 Kinase Enzyme System: Promega) se evaluaron mezclando proteína VEGFR2 (1,56 ng/mL, 2 μ L), sustrato (Poly (4:1 Glu₄, Tyr₁), 100 ng/mL, 2 μ L) con el compuesto de ensayo (2 μ L a 3 μ M, 0,67 μ M, 0,15 μ M, 0,033 μ M, 0,0073 μ M, 0,0016 μ M, 0,0036 μ M o 0,00008 μ M) durante 90 min a 25°C. Se inició la reacción de quinasa añadiendo ATP (50 μ M, 2 μ L) y la mezcla se incubó durante 1 hora a 25°C. Se añadió el reactivo ADP-Glo™ durante 40 min (8 μ L) y a continuación, se añadió el reactivo de desarrollo (16 μ L) durante 40 min antes de la detección en un lector de microplacas (EnVision® Multilabel Reader, Perkin Elmer).

30 En todos los casos, la quinasa convierte ATP en ADP y el reactivo ADP-Glo™ agota el ATP restante. El reactivo de detección convierte el ADP que se ha producido de nuevo en ATP y genera luciferasa que puede detectarse como luminiscencia. Por lo tanto, la señal luminiscente es directamente proporcional a la cantidad de ADP producido por la reacción enzimática y una reducción de esta señal después del tratamiento del compuesto demuestra inhibición. El porcentaje de inhibición producido por cada concentración de compuesto se calculó utilizando la ecuación que se muestra a continuación:

$$\% \text{ inhibición} = 1 - \frac{(\text{Media}_{\text{Min}} - \text{Media}_{\text{inh}})}{(\text{Media}_{\text{Min}} - \text{Media}_{\text{Max}})} \times 100$$

A continuación, se representó gráficamente el porcentaje de inhibición frente a la concentración de compuesto y se determinó la concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC50) a partir de la curva resultante de concentración-respuesta. Una vez determinada esta, se calculó Ki utilizando la siguiente ecuación que se muestra a continuación:

$$K_i = \frac{RIC50}{1 + \left(\frac{[S]}{K_m}\right)}$$

45 Ensayos celulares y otros ensayos in vitro

Proliferación de fibroblasto pulmonar humano normal (NHLF) inducida por PDGF-BB

Los NHLF (Lonza group Ltd) se expanden hasta el 90% de confluencia en medio de crecimiento FGM-2 complementado con un 2% de FBS (más factores de crecimiento SingleQuot™; Lonza). Los fibroblastos se recogen (Trypsin/EDTA), se suspenden a 25x10³ por ml en medio de crecimiento y se añaden 200 μ l por pocillo (5x10³ células/pocillo) de una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos. Tras 24 h de incubación (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), se priva a las células de suero (24 h) reduciendo la concentración de FBS al 0,1% en el medio de cultivo. Se preincuban las células con el compuesto de ensayo durante 1 h y a continuación, se estimulan con rhPDGF-BB (100ng/ml, R&D Systems) durante 48 h. La proliferación celular se evalúa mediante la incorporación de BrdU (ELISA colorimétrico de proliferación celular, Roche). El porcentaje de inhibición de la proliferación de NHLF inducida por rhPDGF-BB mediante el compuesto de ensayo en cada concentración se calcula como un porcentaje de la inhibición lograda por rhPDGF-BB en cada concentración del compuesto de ensayo en comparación con el vehículo control (proliferación basal). La

concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determina a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

Proliferación de fibroblasto de pulmón fetal humano MRC-5 inducida por PDGF-BB / FGF-básico

- 5 Los fibroblastos MRC-5 fibroblasts (estándares LGC) se expanden hasta el 90% de confluencia en medio DMEM complementado con un 10% de FBS. Las células se recogen (Trypsin/EDTA), se suspenden a 25x10³ por ml en medio de crecimiento y se añaden 200µl por pocillo (5x10³ células/pocillo) de una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos. Tras 24 h de incubación (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), se priva a las células de suero (3 h) sustituyendo el medio de crecimiento con un medio que contiene un 0,1% de FBS. A continuación, se preincuban las células con el compuesto
- 10 de ensayo durante 1 h, seguido de estimulación con rhPDGF-BB (100ng/ml, R&D Systems) o rhuFGF-básico (5ng/ml; R&D Systems) durante 48 h. La proliferación celular se evalúa mediante la incorporación de BrdU (ELISA colorimétrico de proliferación celular, Roche). El porcentaje de inhibición de la proliferación de MRC-5 inducida por rhPDGF-BB/ rhuFGF mediante el compuesto de ensayo en cada concentración se calcula como un porcentaje de la inhibición lograda por rhuPDGF-BB / FGF-básico en cada concentración del compuesto de ensayo en comparación con el vehículo control (proliferación basal).
- 15 La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determina a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

Proliferación celular endotelial inducida por VEGF₁₆₅ /FGF-básico

- 20 Se siembran TeloHAEC (células endoteliales de aorta humana inmortalizadas por telomerasa; ATCC) en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos a una densidad celular de 4000 células por pocillo (100µl) en un medio de inaniación de células endoteliales (0,5% de FBS, sin factores de crecimiento FGF y VEGF) y se cultivan durante 3 horas (37 C/ 5%CO₂/95%O₂). Se preincuban las células con el compuesto de ensayo durante 1 h, seguido de estimulación con rhVEGF₁₆₅ (10 ng/ml, R&D Systems) o rhFGF-básico (5ng/ml, R&D Systems) durante 48 h. La proliferación celular se
- 25 evalúa mediante la incorporación de BrdU (ELISA colorimétrico de proliferación celular, Roche). El porcentaje de inhibición de la proliferación de TeloHAEC inducida por rhVEGF₁₆₅/rhFGF-básico mediante el compuesto de ensayo en cada concentración se calcula como un porcentaje de la inhibición lograda por rhVEGF₁₆₅/FGF-básico en cada concentración del compuesto de ensayo en comparación con el vehículo control (proliferación basal). La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determina a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

30

Fosforilación de PDGFRβ en fibroblastos inducida por PDGF-BB

- Se utilizaron MRC-5 / NHLF / NIH-3T3s (fibroblastos embrionarios de ratón, estándares LGC) para evaluar el efecto inhibitorio del compuesto de ensayo sobre la fosforilación de PDGFRβ utilizando el kit de ensayo celular HTRF
- 35 (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo) fosfo-PDGFRβ (Tyr751) (Cisbio). Se sembraron MRC-5 / NHLFs en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos a una densidad celular de 10000 células por pocillo en medio de crecimiento DMEM (10% de FBS) o medio de crecimiento FGM-2 (2% de FBS) respectivamente y se cultivaron durante 48 h (37 C/5%CO₂/95%O₂). Se sembraron NIH-3T3s en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos a una densidad celular de 7000 células por pocillo en medio de crecimiento DMEM (10% de FBS) y se cultivaron durante 48 h (37
- 40 C/5%CO₂/95%O₂). El medio de cultivo celular se sustituyó por el medio de inaniación correspondiente que contenía un 0,1% de FBS y las placas se incubaron durante 24 h más (37 C/ 5%CO₂/95%O₂) para MRC-5/ NHLFs y durante 3 h para NIH-3T3s. Las células se preincubaron con el compuesto de ensayo durante 1 h y a continuación, se estimularon rhPDGF-BB (25-50 ng/ml, R&D Systems) durante 5 min y con rmPDGF-BB (25 ng/ml, Life Technologies) para NIH-3T3s. Se aspiró el medio y las células se lisaron inmediatamente mediante la adición de 50µl del tampón de lisis
- 45 proporcionado en el kit de ensayo HTRF. Se transfirieron 16µl de lisado celular de cada pocillo a una placa blanca de bajo volumen de 384 pocillos, a la que se añadieron los reactivos del kit de propiedad según las instrucciones del kit. La fosforilación de PDGFRβ se cuantificó calculando la proporción de fluorescencia leída a 665nm y 620nm. El porcentaje de inhibición de la fosforilación de PDGFRβ inducida por rPDGF-BB mediante el compuesto de ensayo se calculó como un porcentaje de la fosforilación lograda por rPDGF-BB en cada concentración del compuesto de ensayo
- 50 en comparación con el vehículo control. La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

Fosforilación de VEGFR2 en células endoteliales inducida por VEGF₁₆₅

- 55 Se utilizaron TeloHAECs (células endoteliales de aorta humana inmortalizadas por telomerasa; ATCC) para evaluar el efecto inhibitorio del compuesto de ensayo sobre la fosforilación de VEGFR2 utilizando el kit de ensayo celular HTRF (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo) fosfo-VEGFR2 (Tyr1175) (Cisbio). Se sembraron TeloHAECs en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos a una densidad celular de 12000 células por pocillo en medio de crecimiento endotelial (ATCC; 2% de FBS) y se cultivaron durante 48 h (37 C/ 5%CO₂/95%O₂). El medio de cultivo celular se
- 60 sustituyó por medio de inaniación (sin medios de crecimiento VEGF y FGF) que contenía un 0,5% de FBS y las placas se incubaron durante 24 h más (37 C/ 5%CO₂/95%O₂). Las células se preincubaron con el compuesto de ensayo durante 1 h, seguido de estimulación con rhVEGF₁₆₅ (50 ng/ml, R&D Systems) durante 5 min. Se aspiró el medio y las

células se lisaron inmediatamente mediante la adición de 50µl del tampón de lisis proporcionado en el kit de ensayo HTRF. Se transfirieron 16µl de lisado celular de cada pocillo a una placa blanca de bajo volumen de 384 pocillos, a la que se añadieron los reactivos del kit de propiedad según las instrucciones del kit. La fosforilación de VEGFR2 se cuantificó calculando la proporción de fluorescencia leída a 665nm y 620nm. El porcentaje de inhibición de la fosforilación de VEGFR2 inducida por rhVEGF₁₆₅ mediante el compuesto de ensayo se calculó como un porcentaje de la fosforilación lograda por rhVEGF₁₆₅ en cada concentración del compuesto de ensayo en comparación con el vehículo control. La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determinó a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

10 *Ensayo de contracción del gel de fibroblastos*

Los NHLF se expanden hasta el 90% de confluencia en medio de crecimiento FGM-2 (Lonza) complementado con un 2% de FBS (más factores de crecimiento SingleQuot™). Se recogen los fibroblastos (Trypsin/EDTA) y se suspenden a 1x10⁶ por ml en medio libre de suero. Basándose en el kit de ensayo de contracción celular (Cell Biolabs), se prepara una red celular mezclando 1 parte de suspensión celular + 4 partes de solución de gel de colágeno según las instrucciones del kit. Se añaden alícuotas de 0,9 ml de la red de colágeno a tubos de centrifuga de 1,5 ml y se tratan con concentraciones finales de ensayo del compuesto de ensayo. A continuación, se pipetea 250µl de la red tratada con el compuesto en cada uno de los pocillos de una placa de cultivo de tejido de 48 pocillos (triplicado por concentración de ensayo). La placa se incuba durante 90 minutos (37 C/ 5%CO₂/95%O₂) para permitir que los geles se polimericen. A continuación, se añaden 250µl de medio libre de suero que contiene las concentraciones finales de ensayo del compuesto de ensayo a cada gel correspondiente. Después de otros 30 min de incubación, los geles se estimulan con TGFβ1 (10ng/ml; R&D Systems). Tras un período de incubación de 24 horas (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), cada uno de los geles se extrae y se pesa en una balanza de precisión. El efecto del compuesto de ensayo en cada concentración se expresa como el porcentaje de inversión de la contracción inducida por TGFβ1 en relación con la contracción basal tratada con vehículo.

Ensayo de liberación de fibroblastos IL-6

Los NHLF se expanden hasta el 90% de confluencia en medio de crecimiento FGM-2 (Lonza) complementado con un 2% de FBS (más factores de crecimiento SingleQuot™). Los fibroblastos se recogen (Trypsin/EDTA), se suspenden a 50x10³ por ml en medio de crecimiento y se añaden 200µl por pocillo (10x10³ células/pocillo) de una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos. Tras 24 h de incubación (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), se priva a las células de suero (24 h) reduciendo la concentración de FBS en el medio al 0,1%. Se preincuban las células con el compuesto de ensayo durante 1 h y a continuación, se estimulan con TGFβ1 (5ng/ml, R&D Systems) durante 24 h. Los sobrenadantes libres de células se recuperan para la determinación de las concentraciones de IL-6 por medio de ELISA tipo sándwich (Duo-set, R&D systems). La inhibición de la producción de IL-6 se calcula como un porcentaje de la inhibición alcanzada por 5ng/ml de TGFβ1 en cada concentración del compuesto de ensayo en comparación con el vehículo control. La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determina a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

40 *Apoptosis de mastocitos*

Los mastocitos se diferencian de las células CD34+ de la sangre del cordón umbilical (Lonza) durante 8 semanas en un medio de crecimiento complementado con 100 ng/ml de SCF y 10 ng/ml de IL-6. Los mastocitos se siembran en placas blancas de fondo transparente de 384 pocillos con entre 2500 y 10000 células/pocillo en medios de crecimiento que contienen SCF (100 ng/ml). Como control positivo para la apoptosis, se incuban 8 pocillos en medios de crecimiento sin SCF. Se incuban las células con compuestos de ensayo o vehículo durante 24 h (37 C/ 5%CO₂/95%O₂). Se añade a las células sustrato luminógeno Caspase-3/7 (Ensayo Caspase-Glo 3/7, Promega) y se incuban a temperatura ambiente durante 30 min antes de leer la señal de luminiscencia. La inducción de apoptosis por los compuestos de ensayo se calcula como un porcentaje de la inducción lograda por células incubadas en ausencia de SCF (respuesta apoptótica máxima) para cada concentración de compuesto de ensayo en comparación con el vehículo (apoptosis de base). La concentración inhibitoria relativa al 50% (RIC₅₀) se determina a partir de la curva de concentración-respuesta resultante.

Efecto de los compuestos de ensayo sobre la viabilidad celular

Se sembraron células MRC-5 en placas de cultivo de tejido blancas con fondo transparente (para lecturas de fluorescencia/ luminiscencia) o transparente (para lecturas colorimétricas) de 96 pocillos a una densidad celular de 12 x 10³ células por pocillo en medio de crecimiento DMEM (10% de FBS). Tras 24 h de incubación (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), el medio de crecimiento se sustituyó por un medio que contenía 0,1% de FBS más compuesto de ensayo o vehículo y se incubó durante otras 48 h. Para el ensayo colorimétrico MTT (evaluación de la actividad metabólica celular), se aspiraron los sobrenadantes de cada pocillo y se sustituyeron por 100 µl/pocillo de medio nuevo (0,1% de FBS) y 10 µl/pocillo de 5mg/ml MTT. Tras 1 h de incubación (37 C/ 5%CO₂/95%O₂), se aspiraron los medios y se añadió DMSO

al 100% (100 µl) a cada pocillo. Las placas se agitaron ligeramente durante 15 minutos antes de leer la absorbancia a 550 nm. Se calculó el porcentaje de pérdida de viabilidad celular (representado por una reducción en los valores de absorbancia) para cada concentración de compuesto en comparación con las células tratadas con vehículo (DMSO al 0,5%). Se utilizó el ensayo de citotoxicidad MultiTox-Fluor Multiplex Cytotoxicity Assay junto con el ensayo Caspase-Glo 3/7 (Promega) para medir la citotoxicidad/ viabilidad y apoptosis celular. MultiTox-Fluor Multiplex Cytotoxicity assay es un ensayo fluorescente mediante adición de un solo reactivo que mide simultáneamente el número relativo de células vivas y muertas en las poblaciones celulares. El ensayo ofrece medidas ratiométricas, inversamente correlacionadas, de viabilidad y citotoxicidad celulares. La relación de células viables y células muertas es independiente del número de células y, por lo tanto, puede utilizarse para normalizar los datos. La adición del reactivo simple Caspase-Glo® 3/7 en un formato "añadir-mezclar-medir" provoca lisis celular, seguida de la división en caspasa de un sustrato y la generación de una señal luminiscente "de tipo luminoso". Para este ensayo de citotoxicidad multiplex, se extrajeron cuidadosamente 100µl de sobrenadantes celulares de las células tratadas con el compuesto de 48 h de cada pocillo y se añadieron 50µl de reactivo MultiTox (la solución de trabajo de los reactivos MultiTox patentados se preparó diluyendo 10µl de GF-AFC y bis AAF-R110 en 10ml de tampón de ensayo según las instrucciones del kit). Las células se incubaron en la oscuridad durante 30 minutos antes de realizar dos lecturas de fluorescencia separadas a; 400_{Ex}/ 505_{Em} (lectura de células vivas) y 485_{Ex}/ 520_{Em} (lectura de células muertas). A continuación, se extrajeron cuidadosamente 100µl de sobrenadantes celulares de cada pocillo y se añadieron 50µl de reactivo Caspase 3/7 Glo a la placa celular y se incubó durante 30 minutos en la oscuridad. La actividad de la Caspasa 3/7 se cuantificó leyendo la señal de luminiscencia. Un aumento de la señal por encima de las células de control tratadas con vehículo representaba un aumento de la apoptosis celular.

Ensayo de transición de fibroblasto a miofibroblasto

Para evaluar la actividad antifibrótica de los compuestos de ensayo, se utilizaron dos protocolos alternativos. En el primero, los fibroblastos pulmonares aislados se sembraron en placas de 96 pocillos a 3000 células/pocillo. Cinco (5) días después de la siembra, las células se refrescan y se añaden los compuestos de ensayo o el vehículo a las células. Después de una (1) hora, se añade TGF-β1 (1,25 ng/mL) para inducir la transición de fibroblasto a miofibroblasto. La expresión de αSMA, un marcador de la transición miofibroblástica, se mide después de 72 horas por inmunotinción, se evalúa mediante imágenes de alto contenido en el IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare) y se cuantifica utilizando un algoritmo patentado (BioFocus) con el software de desarrollador IN Cell (GE Healthcare). La salida del algoritmo representa la intensidad de la tinción multiplicada por el área teñida (niveles Dx_A). Se realiza la cotinción de los núcleos celulares con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para cuantificar el número de células, como medida de la toxicidad potencial y/o para normalizar αSMA para las diferencias en la densidad celular.

En el protocolo alternativo, los fibroblastos pulmonares aislados se sembraron en placas de 96 pocillos a 5100 células/pocillo. Después de 24 horas, las células se refrescan con medios de inanición durante otras 24 horas. Se añaden los compuestos de ensayo o el vehículo a las células. Después de una (1) hora, se añade TGF-β1 (0,1 ng/mL) para inducir la transición de fibroblasto a miofibroblasto. La expresión de αSMA, un marcador de la transición miofibroblástica, se mide después de 48 horas por inmunotinción, se evalúa mediante imágenes de alto contenido en el ImageXpres micro (Molecular Devices) y se cuantifica utilizando el software MetaXpress (Molecular Devices). El porcentaje de células positivas se utiliza para evaluar la tinción αSMA y, por lo tanto, el grado de transición de fibroblasto a miofibroblasto. Se realiza la cotinción de los núcleos celulares con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para cuantificar el número de células, como medida de la toxicidad potencial y/o para normalizar αSMA para las diferencias en la densidad celular.

Evaluación de la duración de la acción de los compuestos de ensayo frente a la fosforilación inducida por PDGF-BB de PDGFRβ en células fibroblásticas de pulmón fetal humano

Para determinar la persistencia relativa de los efectos de la exposición a fármacos en la fosforilación inducida por PDGF-BB PDGFRβ, se utiliza un experimento de lavado con células fibroblásticas de pulmón fetal humano MRC-5 y un kit de ensayo celular homogéneo HTRF (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo) fosfo-PDGFRβ (Tyr751) (Cisbio), que detecta la modulación del receptor de fosforilación de PDGFRβ inducida por PDGF-BB.

Protocolo de lavado

Inicialmente, las células MRC-5 se desprenden con tripsina y se neutralizan con medios completos (medio de crecimiento DMEM, 10% de FBS). Se colocan 1.2x10⁶ células en tubos de microfuga, se centrifugan a 10.000 rpm durante 30 segundos utilizando una centrífuga de mesa, se elimina el sobrenadante y las células se lavan en 1ml de tampón de lavado precalentado (37°C) (HBSS pH7,4, 0,1% BSA y 0,04% de ácido plurónico) para eliminar cualquier residuo de FBS. A continuación, las células se centrifugan de nuevo, se elimina el sobrenadante y se incuban con 500 µl de vehículo, compuesto de control de ensayo y compuesto de ensayo (a una concentración que da una inhibición del 70%) durante 1 h agitando suavemente a 37°C. Después de la incubación, las células se dispersan uniformemente

y se extrae una alícuota de 100 μL de cada tubo para un control sin lavado. A continuación, las células restantes se someten a 5 etapas de lavado repetidas en las que las células se centrifugan, se elimina el sobrenadante y se vuelven a suspender en 1 ml de tampón de lavado fresco precalentado (37°C). Para evitar los efectos de transferencia de compuestos debido a la adherencia al plástico, las células se transfieren a tubos nuevos después de cada etapa de lavado y se introducen en un agitador de 37°C (900 rpm) durante 10 minutos de incubación entre lavados para permitir que se restablezca el equilibrio entre las células y el tampón. Tras la última etapa de lavado, las células se vuelven a suspender en 360 μL de tampón de lavado precalentado. Se introducen 5 μL de los tubos sin lavar y lavados en una placa de microtitulación de polipropileno blanco 384 (Greiner) y se incuban a 37°C durante 15 minutos. A continuación, se estimulan las células con 5 μL de rhPDGF-BB (3 ng/ml, R&D Systems) durante 5 min, tras lo cual las células se lisan inmediatamente mediante la adición 10 μL del tampón de lisis proporcionado con el kit de ensayo HTRF. Las células se introducen en un agitador de placas (1450 rpm) durante 1 h, tras lo cual la placa se centrifuga brevemente durante 30 s (3000 rpm) y se añaden los reactivos patentados del kit de HTRF según las instrucciones del kit. La fosforilación de PDGFR β se cuantifica calculando la proporción de fluorescencia leída a 665 nm y 620 nm. El porcentaje de inhibición de la fosforilación de PDGFR β inducida por rhPDGF-BB mediante el compuesto de ensayo se calcula como un porcentaje de la inhibición lograda a 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de rhPDGF-BB en comparación con el vehículo control de ensayo. En la Tabla 7, se presentan los datos como el porcentaje de fosforilación después del lavado en relación con la fosforilación máxima del control (es decir, 100 menos el porcentaje de inhibición anteriormente mencionado).

Ensayo de permeabilidad PAMPA

Este ensayo mide la permeabilidad a través de una membrana artificial y fue realizado por Cypotex utilizando un ensayo paralelo de permeabilidad de membrana artificial. Se trata de un modelo *in vitro* de permeabilidad transcelular pasiva a través de una membrana artificial de hexadecano, (Wohnsland F y col., Med. Chem., 2001 44; 923-930). Los compuestos pueden clasificarse en compuestos de baja y alta permeabilidad. Generalmente, los compuestos que tienen un $P_{\text{app}} < 10 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ se clasifican como de baja permeabilidad y los compuestos con un $P_{\text{app}} > 10 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ se clasifican como de alta permeabilidad. Se cree que es probable que los compuestos de baja permeabilidad tengan un tiempo de residencia prolongado en el pulmón debido a su absorción más lenta (Tronde Ann y col., J Pharm. Sci., 2003, 92(6), 1216-33).

30 Resumen del protocolo

Se añade compuesto de ensayo al lado donante de una membrana artificial PAMPA recubierta de filtro y la permeabilidad se mide monitoreando la apariencia del compuesto de ensayo en el lado receptor de la membrana celular utilizando LC-MS/MS.

35 Procedimiento experimental

Se preparó una solución de hexadecano en hexano (5 % v/v) y se añadió una alícuota a la membrana de cada pocillo en la placa (placa de filtro Multiscreen para permeabilidad, Millipore) del filtro (donante). A continuación, las placas donantes se dejaron secar para garantizar la evaporación del hexano. Se añadió un tampón (pH 7) que contenía DMSO (5 %) a cada pocillo de las placas receptoras. Se prepararon soluciones de compuestos de ensayo diluyendo 10 mM de concentrados de DMSO en tampón, con lo que se obtuvo una concentración final del compuesto de ensayo de 10 μM (concentración final de DMSO del 5 %). También se incluyó en la solución del compuesto de ensayo el marcador de integridad fluorescente amarillo lucifer. La placa donante se insertó en la placa receptora y a continuación, las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 5 horas. Los patrones analíticos se prepararon a partir de soluciones de compuestos de ensayo. La permeabilidad del compuesto de ensayo se evaluó por cuadruplicado. En cada placa se utilizaron como controles compuestos con características de permeabilidad conocidas.

Al final del período de incubación, se extrajo la placa donante de la placa receptora. Las muestras donante y receptora de los compuestos de ensayo y de control se cuantificaron mediante un análisis de cartuchos LC-MS/MS utilizando una calibración de 5 puntos con una dilución apropiada de las muestras. La recuperación experimental se calculó a partir de las concentraciones de los compartimentos donante y receptor.

Si la permeabilidad del amarillo lucifer estaba por encima de los límites de QC para uno, dos o tres pocillos de los distintos compuestos de ensayo, se informó de resultados de $n = 3, 2$ o 1 .

Análisis de datos

El coeficiente de permeabilidad aparente (P_{app}) de cada compuesto se calculó a partir de la siguiente ecuación:

60

$$P_{app} = \left\{ C \times -\ln\left(1 - \frac{[\text{fármaco}]_{\text{receptor}}}{[\text{fármaco}]_{\text{concentración}}}\right) \right\}$$

donde

$$C = \frac{V_D \times V_A}{(V_D + V_A) \text{Área} \times \text{tiempo}}$$

donde V_D y V_A son los volúmenes de los compartimentos donante y receptor, respectivamente, área es el área superficial de la membrana multiplicada por la porosidad y la concentración de fármaco de equilibrio es la concentración del compuesto de ensayo en el volumen total de los compartimentos donante y receptor.

Cribado in vivo: farmacodinámica y farmacocinética

Fibrosis inducida por bleomicina en ratones (un modelo murino de fibrosis pulmonar)

- 15 A ratones C57BL6/J se les administró por vía intratraqueal vehículo o sulfato de bleomicina (MP Biomedicals, 2 U/kg) el día 0. Los compuestos se administran por vía intranasal (como soluciones o suspensiones acuosas, 25-50 ul) una vez al día desde el día 5 hasta el día 20. Transcurridas otras 24 horas, se anestesia a los animales, se les canula la tráquea y se les ventila mecánicamente utilizando un respirador de pistón controlado por ordenador (flexiVent, SCIREQ Inc., Montreal, Canadá). Después de las mediciones de la función pulmonar, se desangran los ratones y se extrajo el
- 20 líquido de lavado broncoalveolar (BALF). El recuento total y diferencial de glóbulos blancos en las muestras de BALF se mide con un hemocitómetro Neubaur. Los frotis de citosina de las muestras de BALF se preparan por centrifugación y se tiñen usando un sistema de tinción DiffQuik (Dade Behring). Se cuentan las células utilizando un microscopio de inmersión en aceite. Los sobrenadantes de BALF sobrantes se guardan para el análisis de citoquinas.
- 25 Se inflan los pulmones enteros a una presión de 25 cm H₂O con formalina tamponada neutra al 10% a través de la cánula traqueal y se sumergen en formalina durante al menos 24 h. Después de procesarlos en bloques de parafina, los pulmones se seccionan (5 µm) y tiñen con hematoxilina y eosina (H&E) o con rojo picro-sirio (PSR). Se toma al azar un número constante de imágenes de 4 secciones transversales. 2 investigadores ciegos califican las imágenes de 0 (sin FP) a 8 (máxima FP) para evaluar los cambios fibróticos en los pulmones. Además, la tinción se realiza de
- 30 la actina muscular alfa-lisa (Thermo Scientific, Fremont, CA, E.E. U.U.) utilizando metodologías estándar. Se evalúa el colágeno soluble en el homogeneizado del pulmón entero mediante el ensayo de colágeno Sircol (Biocolor Ltd, Carrickfergus, UK).

Fosforilación de PDGFRβ inducida por PDGFBB en ratones

- 35 Ratones C57BL/6 (Charles River) de 7 a 12 semanas de edad se exponen a un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad y se les proporciona comida y agua ad libitum. Se preparan soluciones acuosas o suspensiones de compuestos para suministrar las dosis indicadas (mg/kg) en función del peso medio de los ratones de los grupos. Se anestesia a los animales y se les administran compuestos o vehículos por vía intranasal (50 ul). Después de la recuperación en los
- 40 momentos indicados, se vuelve a anestesiarse a los animales y se administra por vía intratraqueal PDGF-BB de ratón recombinado (50 ug/animal, Cambridge Biosciences) o vehículo y a continuación, entre 5 y 30 minutos después de la instilación de PDGF-BB, se toman muestras de sangre terminal y se extirpan los pulmones enteros. Se aísla el plasma de la sangre mediante centrifugación. Aproximadamente la mitad de los lóbulos izquierdos se homogeneizan utilizando un instrumento FastPrep-24 5G en tubos de lisis de Matrix D (MP Biomedicals). Los niveles de fosforilación de
- 45 PDGFRβ se miden mediante Western blot utilizando anticuerpos anti anti-phospho-PDGFRα(Y849)/β(Y857), anti-total PDGFRβ/α y anti GAPDH (Comunicación Celular). Los niveles de fosforilación de PDGFRβ se reportan como relaciones respecto a los niveles totales de PDGFRβ o de GAPDH. El porcentaje de inhibición de la fosforilación de PDGFRβ para cada tratamiento se calcula en relación con el tratamiento con vehículo. Las mediciones de los niveles de compuesto en el plasma o en los homogeneizados pulmonares se determinan mediante LC-MS/MS.

Mediciones farmacocinéticas en roedores

- Se utilizaron ratas macho CD o ratones C57BL/6J para estudios farmacocinéticos donde las sustancias se administraron a los animales por vía intratraqueal, oral o intravenosa en el caso de las ratas y por vía intranasal, oral
- 55 o intravenosa en el caso de los ratones.

Las sustancias se administraron a los animales por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola. A los animales sometidos a administración por vía intratraqueal o intranasal fueron anestesiados antes de la administración usando isoflurano, y óxido nitroso en estudios con ratas, u oxígeno en estudios con ratones.

Se canuló a los animales en la vena lateral de la cola y se los colocó en una caja con calefacción (37-40°C) aproximadamente 5 minutos antes de cada momento de muestreo para dilatar las venas de la cola. Los compuestos se formularon como soluciones para la administración intravenosa y como soluciones o suspensiones para todos los demás métodos. Los animales se pesaron el día en que se administró la dosis y recibieron una única administración de la formulación con el volumen ajustado en función del peso corporal del individuo (Tabla 3). En el caso de las muestras en serie, se tomaron muestras de 150-200 µl de sangre de rata o 20 µl de sangre de ratón (con la adición del mismo volumen de agua) del puerto de la cánula en microcontenedores recubiertos de K₂EDTA en momentos predeterminados a lo largo de 24 horas. El plasma fue aislado por centrifugación (8200rcf durante 5 minutos), solo en estudios con ratas.

Al final, se recogieron muestras de sangre a través de la vena cava descendente en microcontenedores recubiertos de K₂EDTA y se obtuvo fluido BAL lavando los pulmones a través de la tráquea con 3 x 4ml de instilaciones de 4% de BSA en PBS para ratas y 3 x 0,4ml de instilaciones de 4% de BSA en PBS para ratones. Se extirparon los pulmones, se pesaron y se registraron los pesos, y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido.

Las medidas de los niveles compuestos en el plasma o la sangre, los homogeneizados pulmonares y el fluido BAL se determinaron mediante LC-MS/MS. El fármaco se extrajo mediante precipitación de proteína utilizando un exceso de solvente que contenía un estándar interno apropiado. Las concentraciones de fármaco se determinaron frente a una curva estándar externa con ajuste matricial.

Las concentraciones de fármaco se representaron gráficamente frente al tiempo en un gráfico semi-logarítmico (véanse las Figuras 1, 2 y 3). Los parámetros farmacocinéticos estándar se calcularon mediante un análisis no compartimentado. Las concentraciones en el fluido pulmonar y BAL en cada momento se expresaron como el porcentaje de la dosis administrada.

Vía de administración	Ratón	Rata
Intranasal (i.n.)	1,5ml/kg	No utilizado
Intratraqueal (i.t.)	No utilizado	0,5ml/kg
Oral (p.o.)	10ml/kg	10ml/kg
Intravenosa (i.v.)	2ml/kg	1 ml/kg

Resultados

Los resultados de las pruebas en los ensayos de inhibición enzimática y en los ensayos celulares y otros ensayos *in vitro* se muestran en las **Tablas 4 a 10** a continuación y en las **Figuras 1 a 4**.

Tabla 4 Actividades inhibitorias de los compuestos de la invención y nintedanib frente a FGFR1, FGFR3, PDGFR α , PDGFR β , VEGFR1 y VEGFR2.

Número de ejemplo	K _i (nM)					
	FGFR1	FGFR3	PDGFR α	PDGFR β	VEGFR1	VEGFR2
Nintedanib*	32	5,9	8,4	8,0	113	3,8
1	SD	SD	SD	SD	SD	SD
2	161	22	24,5	19,2	295	36,4
3	84,7	8,32	12,8	11,4	137	37,6
4	80,4	9,94	14,5	9,66	88,9	25,2
5	10,2	6,78	4,57	7,13	30,3	9,88
6	11,7	9,92	8,8	8,31	27,1	9,26
7	30,7	8,85	8,8	6,6	56,1	19,8
8	235	25,4	34,8	27,8	399	219

ES 2 796 358 T3

Ensayos enzimáticos						
Número de ejemplo	K _i (nM)					
	FGFR1	FGFR3	PDGFR α	PDGFR β	VEGFR1	VEGFR2
9	65,7	16,5	13,2	9,95	202	10,7
10	127	26,9	37,7	17,4	258	40
11	1580	158	SD	SD	1580	794
12	123	21,4 (n=1)	13,6	11,6	186	58,1
13	63,8	8,65	13,4	11,5	152	32,8
14	94,2	11	10,5	11,1	77,7	22,7
15	134	34,2	19	21,7	341	102
16	228	15,7	14,9	14,1	313	83,8
17	75,5	14,6	16	11,7	100	37,4
18	166	7,42	14	11	177	38,6
19	68,7	11,7	15,9	9,62	126	33,7
20	63,7	16,7	15,2	11,1	125	39,8
21	80,8	13,2	13,8	10,2	121	31,7
22	66	8,14	7,54	10	145	29,8
23	49,9	13,3	17,8	12,2	85,7	32
24	67,8	15,2	18,1	15,5	146	51
25	314	16,2	25,5	19,8	304	76,8
26	17,8	12,6	12	8,61	96,3	11,4
27	20	10,2	9,11	4,77	71,5	13,8
28	29,1	10,7	12,4	7,88	125	18,2
29	25	9,56	9,33	7,48	87,8	22,5
30	27,3	9,56	9,37	7,32	49	20,4
31	27	10,7	8,74	6,58	76,5	20
32	28,7	10,7	10,5	4,92	106	19,6
33	94	20,8	14,4	8,47	259	44,5
34	91,9	26,4	19,6	15,8	158	43,9
35	94,2	30,6	39,6	22,1	99,6	58,4
36	52,3	23,7	13,6	8,46	111	37,5
37	1070	347	238	244	1330 (n=1)	661
38	90,7	7,68	13,6	6,91	115	43,3
39	63,9	7,06	6,71	5,39	101	45
40	68,7	17,9	10,6	7,66	123	49,5
41	187	27,6	20	15	270	91,1
42	118	20,2	9,62	7,06	186	49,1
43	350	50,3	34,6	32,4	329	155
44	858	105	137	103	534	409
45	160	29,4	26,2	14,1	256	73,2
46	346	45,8	53,3	28,1	664	194
47	122	21,9	15,3	10,2	172	42,6
48	53,7	18,3	16,6	18,3	231	70

Ensayos enzimáticos						
Número de ejemplo	K _i (nM)					
	FGFR1	FGFR3	PDGFR α	PDGFR β	VEGFR1	VEGFR2
49	91,6	28	31,3	31,1	206	61,3
50	26,7	9,69	11	9,24	77,7	18,4
51	38,3	9,39	11,3	9,44	72,3	31,6
52	79,2	33	27,3	17	241	52
53	97,3	36,4	33,4	20,3	184	70,3
54	56,7	25,7	20,2	18,1	120	37,4
55	96,5	23,1	30	21,3	166	71,1
56	29,6	12,4	11,4	7,19	66,7	12,8
57	38,4	11,2	11,2	9,84	57,5	5,36
58	53,3	8,96	11,3	8,87	74,8	3,86
59	34,1	11,5	14,7	9,19	44,7	5,43
60	54,2	12,2	16,6	13	63,7	5,24
61	97,5	16,4	27,3	18,3	110	11,8
62	47,7	6,78	11,6	11,2	72,6	5,74
63	67,5	22	16,4	15,7	182	16,7
64	SD	SD	SD	SD	SD	SD
65	25	7,9	13	13	79	79
66	50	6,3	20	16	100	20
67	SD	SD	SD	SD	SD	SD
68	63	63	SD	SD	126	32
69	79	32	SD	SD	200	40
70	32	13	SD	SD	200	25
71	126	25	SD	SD	398	100
72	126	16	SD	SD	200	79
73	40	7,9	13	7,9	100	16

SD: sin determinar; n=2 a menos que se indique lo contrario (media); *n=34

Tabla 5 Efectos inhibitorios de los compuestos de la invención y nintedanib sobre la fosforilación de PDGFR β en fibroblastos inducidos por PDGFBB en células MRC5 y sobre la fosforilación de VEGFR2 en células endoteliales inducida por VEGF₁₆₅.

5

Fosforilación del receptor (IC ₅₀ nM)		
Número de ejemplo	Fosforilación inducida por PDGFR β en células MRC5	Fosforilación de VEGFR2 inducida por VEGF ₁₆₅ en células HAEC
Nintedanib	7,07 (n=8)	0,594 (n=13)
1	SD	32,2
2	39,6	SD
3	7,14	13,9 (n=2)
4	15,2 (n=3)	23,9 (n=2)
5	7,74	4,17 (n=2)
6	6,95 (n=2)	6,58 (n=6)
7	10,4 (n=2)	12,5

ES 2 796 358 T3

Fosforilación del receptor (IC ₅₀ nM)		
Número de ejemplo	Fosforilación inducida por PDGFR β en células MRC5	Fosforilación de VEGFR2 inducida por VEGF ₁₆₅ en células HAEC
8	21,5	39,5
9	8,45	SD
10	13,6	SD
11	15,3	22,6 (n=2)
12	SD	31,1
13	4,4	13,9 (n=2)
14	SD	9,32
15	19,9	30,1 (n=1)
16	SD	SD
17	SD	SD
18	3,68	4,47
19	5,95	54,7 (n=2)
20	SD	SD
21	6,79	25
22	6,68	8,26
23	SD	SD
24	SD	8,21
25	19,4	52,1
26	5,39	5,47 (n=2)
27	10,4	SD
28	5,03	5,1
29	3,18	30,7
30	7,43	10,2
31	7,72	46,4
32	3,09	11,4
33	8,99	83,5
34	13,4	24,2
35	26,9	94,2
36	9,44	12,6
37	24,1	71,1
38	14,6	56,7
39	33,8	38,1
40	29,2	157
41	37,4	SD
42	56,3	103
43	25,7	33,8
44	73,9	SD
45	27,2	124
46	31,7	128
47	39	371

Fosforilación del receptor (IC ₅₀ nM)		
Número de ejemplo	Fosforilación inducida por PDGFR β en células MRC5	Fosforilación de VEGFR2 inducida por VEGF ₁₆₅ en células HAEC
48	38,8	SD
49	40,2	23,5
50	9,42	26,8
51	9,39	19,1
52	21,8	17
53	43,8	33,6
54	34,1	38,1
55	17,3	17
56	3,95	7,54
57	5,04	SD
58	4,06	SD
59	25,4	SD
60	5,6	SD
61	7,84	SD
62	4,61	SD
63	4,74	SD
64	SD	32,2
65	9,3	15,5
66	15,5	17,8
67	SD	SD
68	16,5	SD
69	14,3	12,9
70	9,98	8,87
71	23,2	102
72	36,7	172
73	12,7	7,83

SD: sin determinar; n=1 a menos que se indique lo contrario

Tabla 6 Efecto de los compuestos de la invención y nintedanib sobre la viabilidad celular de células MRC5 (ensayo MTT).

Ensayo de viabilidad celular en células MRC5 (MTT)			
Número de ejemplo	Viabilidad celular a 1000nM (%)	Viabilidad celular a 300nM (%)	Viabilidad celular a 100nM (%)
Nintedanib (n=30)	92,7	105,6	104,6
1	87 (n=2)	97 (n=2)	116,6
2	101,2	104,4	124,5
3 (n=3)	67,2	85,4	106
4 (n=3)	88,8	94,8	99,2
5 (n=3)	71,5	92,5	100,6
6 (n=12)	77	88,5	98,1

ES 2 796 358 T3

Ensayo de viabilidad celular en células MRC5 (MTT)			
Número de ejemplo	Viabilidad celular a 1000nM (%)	Viabilidad celular a 300nM (%)	Viabilidad celular a 100nM (%)
7 (n=2)	86,8	98	90,7
8	91	95,7	93,4
9	88,6	96,3	129,9
10	42	100,9	105,9
11	94,8 (n=2)	91,5 (n=2)	104,8
12 (n=3)	79,4	101,7	104,8
13 (n=2)	61,2	98,8	110,2
14 (n=2)	87,5	96,9	110,8
15 (n=2)	97,5	99	106,9
16	51,9	59,9	79
17	92,5	90,5	83
18	68,7	90,3	104,5
19	76,9	92,7	108,3
20	90,7	81,7	75,5
21 (n=2)	53	86,6	95,5
22	39,2	74,1	102
23	67,9	85,9	93,1
24 (n=2)	103,1	104,7	85,4
25	79,3	104,8	108,5
26	88	111,4	111,8
27 (n=3)	86,4	88,6	94,9
28	104,8	117	110,2
29	91,8	85,8	92
30	26	87,7	96,1
31	95,7	97,3	111,7
32	66,3	82,3	93,5
33 (n=2)	91,3	101,3	110,7
34	61,5	80	114,8
35	75,7	77,2	92,9
36	65,9	93	108,8
37	106	98,9	95,2
38	93	90,8	89,3
39	90,8	90,1	89,9
40	110,5	103,8	103,8
41	86,8	96,1	112,3
42	118,3	109,6	114,5
43	83,9	91,8	96,5
44	109,8	105,9	103
45	80,7	104,7	98,9
46	86,3	109,5	120,7

Ensayo de viabilidad celular en células MRC5 (MTT)			
Número de ejemplo	Viabilidad celular a 1000nM (%)	Viabilidad celular a 300nM (%)	Viabilidad celular a 100nM (%)
47	93	102,4	112
48	103,5	121	132,6
49	69,4	110,8	124,5
50	69,7	92,6	107,5
51	71,2	85,8	86,5
52	59,8	50,9	62
53	97,8	96,8	124,2
54	92,9	99,8	101
55	92,3	111,1	106,7
56	70,5	121	132
57	91,2	123,2	123,5
58	55,6	116,9	110,2
59	103,8	107,7	123,5
60	0,2	84,4	88,8
61	35,2	86,6	83
62	-0,2	73,8	80,7
63	12,1	116,9	99
64	73,7	88,6	86,5
65	70,5	110,3	118,6
66	53,8	92,9	102,8
67	SD	SD	SD
68	SD	SD	SD
69	74,0	93,1	92,5
70	94,0	99,7	91,7
71	SD	SD	SD
72	SD	SD	SD
73	96,8	104	82,9
SD: sin determinar; n=1 a menos que se indique lo contrario			

Tabla 7 Duración de la acción de compuestos ejemplares como inhibidores de la fosforilación inducida por PDGF-BB de PDGFR β en células fibroblásticas pulmonares de fetos humanos. Porcentaje de fosforilación después del lavado en relación con la fosforilación máxima (100%) de 3 μ g/ml rhPDGF-BB del vehículo control de ensayo.

Grupo 1			
N.º de Ejemplo	% de fosforilación	n	SEM
Nintedanib	52,4	4	3,1
6	31,6	4	5,4
4	52,3	4	8,3
Grupo 2			
N.º de Ejemplo	% de fosforilación	n	SEM
Nintedanib	29,5	4	2,2
7	84,7	3	14,6

Grupo 2			
N.º de Ejemplo	% de fosforilación	n	SEM
5	37,3	3	4,6
Grupo 3			
N.º de Ejemplo	% de fosforilación	n	DE
Nintedanib	33,2	2	2,0
3	34,6	2	5,1
9	56,8	2	3,2
Grupo 4			
N.º de Ejemplo	% de fosforilación	n	DE
Nintedanib	30,9	2	4,8
57	73,1	2	7,3
73	69,3	2	1,7
4	15,9	1	

5 Dado que los valores más bajos indican un mayor porcentaje de inhibición de la fosforilación de PDGFR β , los datos de la Tabla 7 revelan que los compuestos ejemplares 4 y 6 tienen una duración de acción más prolongada como inhibidores de PDGFR β que el nintedanib en este ensayo.

Tabla 8 Determinación de P_{app} para los compuestos de la invención en el ensayo de permeabilidad PAMPA

N.º de Ejemplo*	Datos del ensayo PAMPA			
	P_{app} medio (10^{-6} cm s $^{-1}$)	P_{app} DE	P_{app} N	Porcentaje de recuperación
Nintedanib	0,277	0,151	4	83,5
Nintedanib	0,129	0,0547	4	64
1	SD	SD	SD	SD
2	0,0261	0,0119	4	54,1
3	0,0384	0,0164	4	76
3	0,023	0,00388	3	55,3
4	0,00862	0,00122	3	44,9
4	0,0524	0,00825	2	75,6
5	0,0227	0,00987	4	50,4
5	0,0615	0,00588	3	60,9
6	0,00649	0,0019	4	42
7	0,0245	0,00257	4	58,1
8	SD	SD	SD	SD
9	0,0761	0,0494	3	82,9
10	24,8	6,61	4	92,6
11	SD	SD	SD	SD
12	0,564	0,254	3	41
13	0,0138	0,00726	4	91
14	0,434	0,198	4	57,2
15	0,0756	0,0371	2	37,6
16	SD	SD	SD	SD
17	0,0142	0,00675	4	91,9

ES 2 796 358 T3

N.º de Ejemplo*	Datos del ensayo PAMPA			
	P _{app} medio (10 ⁻⁶ cm s ⁻¹)	P _{app} DE	P _{app} N	Porcentaje de recuperación
18	0,424	0,138	4	51,5
19	0,00329	0,000375	4	54,6
20	0,0305	0,0153	4	91,7
20	0,0296	0,0159	4	66,5
21	SD	SD	SD	SD
22	SD	SD	SD	SD
23	20	2,73	4	51,8
24	44,8	13,6	4	71,8
25	30	6,72	4	41,5
26	0,0156	0,0047	4	40,2
27	0,00146	0,000782	4	61,2
28	0,00407	0,00136	4	69,0
29	0,00415	0,00238	4	65,1
30	0,00225	0,000845	4	87,0
31	SD	SD	SD	SD
32	0,0192	0,0103	4	42,8
33	0,00743	0,00316	3	71,9
34	SD	SD	SD	SD
35	SD	SD	SD	SD
36	0,0301	0,00466	3	53,1
37	SD	SD	SD	SD
38	0,00569	0,00194	3	55,4
39	SD	SD	SD	SD
40	0,00954	0,00451	4	75,0
41	0,00258	SD	1	59,6
42	0,0264	SD	1	76,8
43	0,00798	0,00642	4	75,3
44	SD	SD	SD	SD
45	SD	SD	SD	SD
46	SD	SD	SD	SD
47	SD	SD	SD	SD
48	0,220	0,107	4	67,4
49	0,0768	0,0158	4	75,2
50	0,0566	0,0253	2	179
51	0,00306	0,00084	4	62
51	0,00474	0,00333	4	74,7
52	0,279	0,0567	4	76,2
53	SD	SD	SD	SD
54	SD	SD	SD	SD
55	0,154	0,0407	2	59,1
56	0,719	0,154	4	69,7

Datos del ensayo PAMPA				
N.º de Ejemplo*	P _{app} medio (10 ⁻⁶ cm s ⁻¹)	P _{app} DE	P _{app} N	Porcentaje de recuperación
57	0,688	SD	1	50,5
58	0,0296	0,00422	2	49,5
59	0,0364	0,0120	4	69,6
60	0,0503	0,0105	3	69,2
61	0,0205	0,00130	3	64,4
62	0,00628	0,000584	4	72,8
63	SD	SD	SD	SD
64	0,0679	0,0169	2	59,4

SD = sin determinar *para algunos compuestos, se muestran los valores de una repetición

Tabla 9 Mediciones farmacocinéticas durante un período de 24 horas en ratas a las que se administraron por vía intravenosa (i.v.) e intratraqueal (i.t.) compuestos de la invención o nintedanib.

Número de ejemplo	Nintedanib	5	6	4	3	15	7
Dosis i.v.	0,42	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
CL (ml/min/kg)	124	48	132	462	285	SD	SD
V _{ss} (l/kg)	28	23	63	39	51	SD	SD
t _{1/2} (h)	3,9	7,6	8,1	2,2	3,1	SD	SD
MRT (h)	3,8	8	7,9	2,4	3,0	SD	SD
Concentración pulmonar (nM) en el tiempo (h)							
0,1	2304	475	2994	419	719	501	329
1,5	1392	251	1875	266	325	209	172
6	SD	92	SD	SD	SD	SD	69
24	66	52	173	12	28	66	30
relación pulmón/plasma en el tiempo (h)							
0,1	92	24	103	77	126	55	17
1,5	226	36	315	285	315	62	15
6	SD	26	SD	SD	SD	SD	10
24	NC	98	198	BLQ	NC	103	SD
Porcentaje BAL % de la dosis administrada en el tiempo (h)							
0,1	0,06	0,04	0,06	0,01	0,03	0,09	BLQ
1,5	0,03	0,01	0,03	BLQ	0,02	0,02	BLQ
6	SD	0,01	SD	SD	SD	SD	BLQ
24	BQL	0,01	BQL	BLQ	BLQ	0,01	BLQ
Estudios de dosificación i.t.							
Dosis i.t.	0,42	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
i.t. BAV (%)	43	70	115	67	325	SD	SD
Concentración pulmonar (nM) en el tiempo (h)							

Número de ejemplo	Nintedanib	5	6	4	3	15	7
0,1	12396	3593	30413	5543	6693	3433	2100
1,5	7699	1710	11876	1538	1684	1370	881
6	SD	629	SD	SD	SD	SD	1005
24	152	747	4724	218	247	135	519
Relación de concentración pulmonar/plasma en el tiempo (h)							
0,1	1227	74	288	279	176	177	233
1,5	1607	362	2893	1321	1426	884	114
6	SD	461	SD	SD	SD	SD	114
24	NC	1519	3282	NC	503	314	SD
Porcentaje BAL % de la dosis administrada en el tiempo (h)							
0,1	2	3,1	6	3	3	2,4	5,3
1,5	1	0,6	3	0,3	0,3	0,6	0,2
6	SD	0,3	SD	SD	SD	SD	0,3
24	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Relación de concentración pulmonar i.t./i.v. en el tiempo (h)							
0,1	5,4	7,6	10,2	13,2	9,3	6,9	6
1,5	5,5	6,8	6,3	5,8	5,2	6,6	5
6	SD	6,8	SD	SD	SD	SD	15
24	2,3	14,4	27,3	18,2	8,8	2,0	17
Estudios de dosificación oral							
Dosis oral (mg/kg)	-	3	3	-	-	-	3
BAV oral (%)	-	4	< 1	-	-	-	SD
SD: sin determinar NC: no calculable debido a que uno de los parámetros es BLQ BLQ: por debajo del nivel de cuantificación							

Tabla 10 Mediciones farmacocinéticas durante un período de 24 horas en ratones a los que se administraron por vía intravenosa (i.v.) e intranasal (i.n.) compuestos de la invención o nintedanib.

Número de ejemplo	Nintedanib		6		5	
	Media	de	Media	de	Media	de
Dosis i.v.	1	SD	0,2	SD	0,2	SD
CL (ml/min/kg)	81	6	SD	SD	111	20
Vss (l/kg)	10	2,3	SD	SD	21	4
t1/2 (h)	2	0,3	SD	SD	2,6	0,2
MRT (h)	2	0,4	SD	SD	3,2	0,1
Concentración pulmonar (nM) en el tiempo (h)						
0,1	2378	128	580	55	868	SD
1,5	1345	430	168	36	416	84

ES 2 796 358 T3

Número de ejemplo	Nintedanib		6		5	
	Media	de	Media	de	Media	de
6	SD	SD	46	36	306	202
24	10	9	13	11	20	4
relación pulmón/plasma en el tiempo (h)						
0,1	7	SD	11	SD	13	SD
1,5	26	SD	40	SD	39	SD
6	SD	SD	65	SD	152	SD
24	NC	SD	NC	SD	NC	SD
Porcentaje BAL % de la dosis administrada en el tiempo (h)						
0,1	0,3	SD	0,1	SD	0,07	SD
1,5	0,03	SD	0,01	SD	0,02	SD
6	SD	SD	NC	SD	0,01	SD
24	NC	SD	NC	SD	0,02	SD
Estudios de dosificación i.n						
Dosis i.n.	1	SD	0,2	SD	0,2	SD
BAV (%)	29	6	~50	SD	14	19
Concentración pulmonar (nM) en el tiempo (h)						
0,1	2755	4460	1493	2138	3507	SD
1,5	804	1006	986	593	1728	SD
6	SD	SD	258	219	1322	SD
24	15	2	84	17	363	SD
Relación de concentración pulmonar/plasma en el tiempo (h)						
0,1	42	SD	79	SD	209	SD
1,5	27	SD	398	SD	688	SD
6	SD	SD	607	SD	1127	SD
24	NC	SD	NC	SD	NC	SD
Porcentaje BAL % de la dosis administrada en el tiempo (h)						
0,1	0,5	SD	1	SD	1	SD
1,5	0,1	SD	0,3	SD	0,1	SD
6	SD	SD	0,1	SD	0,3	SD
24	NC	SD	0,04	SD	0,1	SD
Concentración pulmonar i.n. / i.v. Relación en el tiempo (h)						
0,1	1,2	SD	2,6	SD	4,0	SD
1,5	0,6	SD	5,9	SD	4,2	SD
6	SD	SD	5,6	SD	4,3	SD

Número de ejemplo	Nintedanib		6		5	
	Media	de	Media	de	Media	de
24	1,5	SD	6,5	SD	18,2	SD
Estudios de dosificación oral						
Dosis oral (mg/kg)	60	SD	10	SD	10	SD
BAV (%)	32	5	< 5		13	5
SD: sin determinar						
NC: no calculable debido a que uno de los parámetros es BLQ						
BLQ: por debajo del nivel de cuantificación						
de: desviación estándar						

Resumen de los resultados

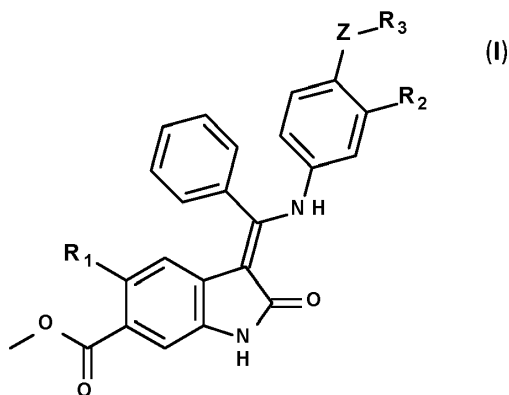
- 5 Los compuestos de la invención, tal como se describen en esta solicitud, demuestran actividad inhibitoria frente a FGFR1, FGFR3, PDGFR α , PDGFR β , VEGFR1 y VEGFR2 (**Tabla 4** y **Tabla 5**) y potencia nanomolar. La gran mayoría de los compuestos ensayados no muestran efectos adversos en los ensayos de viabilidad celular (**Tabla 6**). Además, generalmente los compuestos tienen una baja permeabilidad a través de membranas (**Tabla 8** y **Figura 1**). Ciertos compuestos mostraron evidencia de una mayor duración de acción con respecto al nintedanib, como se determinó
- 10 con respecto a la inhibición de la fosforilación inducida por PDGF-BB de células fibroblásticas de pulmón fetal humano (véase la tabla 7). Las mediciones farmacocinéticas muestran que, generalmente, se determina que los compuestos de la invención tienen un mayor contenido relativo que permanece en el pulmón 24 horas tras la administración tópica después de que el sujeto recibe la dosis que el nintedanib (**Tablas 9** y **10** y **Figuras 2 a 4**). Los bajos niveles de BAL observados junto con las cantidades cada vez más reducidas a lo largo de un período de 24 h indican que con los
- 15 compuestos de la invención, se produce una rápida disolución y absorción en el tejido pulmonar. Este perfil indica que se espera que los compuestos de la invención sean adecuados como medicamentos, *entre otras cosas*, para el tratamiento de enfermedades fibróticas o enfermedades pulmonares intersticiales, como la FPI, o trastornos respiratorios, especialmente cuando se administran por vía tópica al pulmón.

20 Bibliografía

- Castriotta RJ, y col., Chest, 2010, 138(3):693-703
 Du Bois RM., Nat Rev Drug Discov., 2010, 9(2):129-40
 Fehrenbach. H., y col., Virchows Arch., 1999, 435(1):20-31
- 25 King TE Jr, y col., Lancet, 2011, 3;378(9807):1949-61
 Lindroos. P., Am J Physio Lung Cell Mol Physiol., 2001, 280:L354-L362
 Tronde Ann y col., J Pharm. Sci., 2003, 92(6), 1216-33
 Selman M, y col., Ann Intern Med., 2001, 16;134(2):136-51
 Wohnsland F y col., Med Chem., 2001, 44:923-930

REIVINDICACIONES

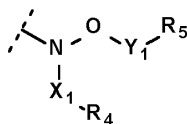
1. Un compuesto de fórmula (I):



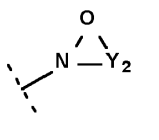
5

donde

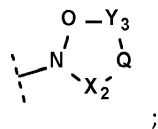
- 10 R_1 representa H, Me, Et, $CH=CH_2$, $C\equiv C-H$ o $C\equiv C-Me$;
 R_2 representa H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 alcoxi, C_3-C_8 cicloalquilo, $-CH_2-(C_3-C_8$ cicloalquilo), halógeno o ciano;
 R_3 representa (i)



15 o (ii)



20 o (iii)



- 25 Q representa un heteroátomo seleccionado de entre O, N y S y si N puede ser sustituido opcionalmente por C_1-4 alquilo;
Z representa CO o SO_2 ;
 Y_1 representa $(CH_2)_n$ y, excepto cuando m representa 0, puede ser sustituido opcionalmente por Me;
 X_1 representa $(CH_2)_m$ y, excepto cuando m representa 0, puede ser sustituido opcionalmente por Me;
n y m representan independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;
 Y_2 representa $(CH_2)_s$ y puede ser sustituido opcionalmente por Me;
30 s representa 2, 3, 4, 5 o 6;
 Y_3 representa $(CH_2)_t$ y puede ser sustituido opcionalmente por Me;
 X_2 representa $(CH_2)_v$ y puede ser sustituido opcionalmente por Me;
t y v representan independientemente 2 o 3, salvo que $t + v = 4$ o 5;
35 R_4 representa H, OH, NR_6R_7 o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, salvo cuando R_4 es OH o NR_6R_7 , m es 2, 3, 4 o 5;
 R_5 representa H, OH, NR_8R_9 o un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, salvo cuando R_5 es OH o NR_8R_9 , n es 2, 3, 4 o 5;

- en el que los grupos heterocíclicos alifáticos que pueden representar R₄ y R₅ pueden contener opcionalmente un grupo carbonilo o sulfona y pueden ser sustituidos opcionalmente por uno o más grupos seleccionados de entre -C₁-C₄alquilo, C₁-C₄hidroxialquilo-, C₁-C₄alcoxi(C₁-C₄)alquilo-, -C₁-C₄alquilenosCONR₁₀R₁₁, CN, OH y NR₁₂R₁₃; R₆, R₇, R₈, R₉ representan independientemente H, o C₁-C₄ alquilo opcionalmente sustituido por OH, oxo, NR₁₄R₁₅ o-C₁-C₄alcoxi; y R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄ y R₁₅ representan independientemente H o C₁-C₄alquilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, donde R₁ representa Me o H.
3. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde R₂ representa H, Me o F.
4. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde Z representa CO o SO₂.
5. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R₃ está representado por la fórmula (I).
6. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 5, donde el resto -X₁-R₄ representa H, Me, CH₂CH₃, isopropil, 1-metil-piperidina-4-il o N,N-dimetilamino.
7. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 5 o 6, donde el resto -Y₁-R₅ representa Me, -(CH₂)₂-dimetilamino, -(CH₂)₃-dimetilamino, -(CH₂)₂-(N-metil)-etanolamino, -(CH₂)₂-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(4-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(3-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₃-(4-metil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-(1-metil)-piperidina-4-il, N-metil-piperidina-4-il, -(CH₂)₂-(4-etil)-piperazina-1-il, -(CH₂)₂-3-(N,N-dimetilamino)-pirrolidina-1-yl, -(CH₂)₂-(4-(CH₂CH₂OH)-piperazina-1-il), -(CH₂)₂-3,4,5-trimetilpiperazina-1-il, -(CH₂)₂-piperidina-1-il, -(CH₂)₃-piperidina-1-il, -(CH₂)₂-morfolina-4-il, -(CH₂)₂-(4-hidroxi-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(4-ciano-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(2,6-dimetil-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(4-metoxietil-piperazina-1-il), -(CH₂)₂-4-(N,N-dimetilamino-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-(4-metoxi-piperidina-1-il), -(CH₂)₃-(4-metoxi-piperidina-1-il), -(CH₂)₂-4-(N-metilacetamido)-piperazina-1-il), -(CH₂)₂-(4-dioxiomorfolina-1-il), -(CH₂)₂-(3-oxopiperazina-1-il), -(CH₂)₂-(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il), -(CH₂)₂-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-8-il), (CH₂)₂-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-3-il), (CH₂)₂-3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-il.
8. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde (a) R₃ está representado por la fórmula (ii) y s representa 2 o (b) R₃ está representado por la fórmula (iii), t representa 2, v representa 2, y Q es N u O.
9. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que se selecciona de entre:
- (Z)-metil 3-(((4-(metoxi(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(N-(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxietil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 2-oxo-3-(fenil-((4-((2-(piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxoetil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(N-metoxi-N-metilsulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(2-morfolinoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato de metil;
 (Z)-metil 3-(((4-(2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(metil(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(N-(2-(dimetilamino)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(3-metil-4-((2-morfolinoetoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;

- (Z)-metil 3-(((3-metil-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((3-metil-4-(metil(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 5 (Z)-metil 3-(((4-((3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)-3-fluorofenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-il)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)(metil)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 10 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etil)(metoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(5-metil-1,2,5-oxadiazepano-2-carbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(*N*-metil-*N*(2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 15 (Z)-metil 3-(((4-((2-(dimetilamino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((3-metil-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((3-(dimetilamino)propoxi)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 20 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(((1-metilpiperidina-4-il)oxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((3-metil-4-(((1-metilpiperidina-4-il)oxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 25 (Z)-metil 3-(((3-fluoro-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((3-fluoro-4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-il)carbamoil)-3-metilfenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 30 (Z)-metil 3-(((4-(metoxi(1-metilpiperidina-4-il)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-etilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 35 (Z)-metil 3-(((4-(1,2-oxazetidina-2-carbonil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (S,Z)-metil 3-(((4-((2-(3-(dimetilamino)pirrolidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 40 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-idroxi)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-idroxi)piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(1,1-diosidotiormorfolino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 2-oxo-3-(((4-((2-(3-oxopiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-cianopiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(2*S*,6*R*)-2,6-dimetilpiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 45 (Z)-metil-3-(((4-((2-((2-idroxi)etil)(metil)amino)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-metoxi)etil) piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 50 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(dimetilamino) piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(*N*-(2-(dimetilamino)etoxi)sulfamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil((4-((2-(piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(dimetilamino) piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 55 (S,Z)-metil 3-(((4-((2-(3-(dimetilamino)pirrolidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metoxi)piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
- 60 (Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil((4-((3-(piperidina-1-il)propoxi)carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-idroxi)piperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;

- (Z)-metil 3-(((4-((3-(4-metoxipiperidina-1-il)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-((2-hidroxi)etil)(metil)amino)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 5 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-hidroxi)etil)piperazina-1-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 10 (Z)-metil 3-(((4-((2-((1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-8-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano-3-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 15 (S,Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(3-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-cianopiperidina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 20 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((3-(4-metilpiperazina-1-il)propoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (R,Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(3-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 25 (Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil(((4-((2-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazina-1-il)etoxi) carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(etil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato; y
 30 (Z)-metil 3-(((4-(isopropil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (R,Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(3-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)metil(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-((2-(3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-3-il)etoxi)(metil)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 35 (Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(fenil(((4-((2-((3R,5S)-3,4,5-trimetilpiperazina-1-il)etoxi) carbamoil)fenil)amino)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(etil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 40 (Z)-metil 3-(((4-(isopropil(2-(piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)etilo(fenil)metileno)-5-metil-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-2-oxo-3-(((4-((2-(3-oxopiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)indolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxo)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 45 (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-(2-(metilamino)-2-oxo)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;
 (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-(2-(metilamino)-2-oxo)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato;

50 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que es (Z)-metil 3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
 55 11. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que es (Z)-metil 5-metil-3-(((4-((2-(4-metilpiperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
 60 12. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que es (Z)-metil 5-metil-3-(((4-(metil(2-(4-(2-(metilamino)-2-oxo)etil)piperazina-1-il)etoxi)carbamoil)fenil)amino)(fenil)metileno)-2-oxoindolina-6-carboxilato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

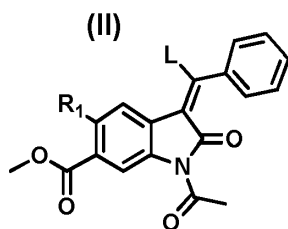
13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

5 14. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso como medicamento.

15. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o una composición según la reivindicación 13 para su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas o enfermedades pulmonares intersticiales, por ejemplo, seleccionadas de entre FPI, neumonía intersticial de células gigantes, sarcoidosis, fibrosis quística, síndrome de dificultad respiratoria, fibrosis pulmonar inducida por fármacos, granulomatosis, silicosis, asbestosis, esclerodermia sistémica, cirrosis hepática inducida por virus seleccionada de entre cirrosis hepática inducida por hepatitis C, o enfermedades de la piel con un componente fibrótico, por ejemplo, seleccionadas de entre esclerodermia, sarcoidosis y lupus eritematoso sistémico, o para su uso en el tratamiento de enfermedades **caracterizadas por** la hiperproliferación de células, por ejemplo, cáncer, particularmente, cáncer de pulmón, o para su uso en el tratamiento de trastornos respiratorios, incluida EPOC (incluidos bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrico, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis.

16. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o una composición según la reivindicación 13 en combinación con nintedanib o pirfenidona para su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas o enfermedades pulmonares intersticiales seleccionadas de entre FPI, neumonía intersticial de células gigantes, sarcoidosis, fibrosis quística, síndrome de dificultad respiratoria, fibrosis pulmonar inducida por fármacos, granulomatosis, silicosis, asbestosis, esclerodermia sistémica, cirrosis hepática inducida por virus seleccionada de entre cirrosis hepática inducida por hepatitis C, o enfermedades de la piel con un componente fibrótico, por ejemplo, seleccionadas de entre esclerodermia, sarcoidosis y lupus eritematoso sistémico, o para su uso en el tratamiento de enfermedades **caracterizadas por** la hiperproliferación de células, por ejemplo, cáncer, particularmente, cáncer de pulmón, o para su uso en el tratamiento de trastornos respiratorios, incluida EPOC (incluidos bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrico, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis.

30 17. Un compuesto de fórmula (II):



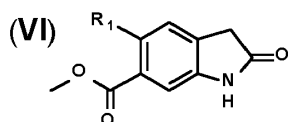
donde

35

R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me;
L representa -OC₁₋₄ alquilo;

o una sal del mismo; o

40 un compuesto de fórmula (VI):



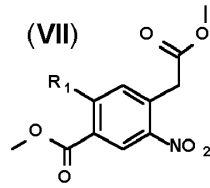
donde

45

R₁ representa Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me,

o una sal del mismo; o

50 un compuesto de fórmula (VII):

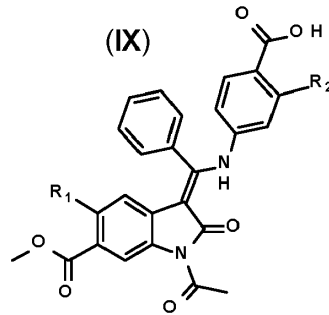


donde

5 R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me,

o una sal del mismo; o

un compuesto de fórmula (IX):



10

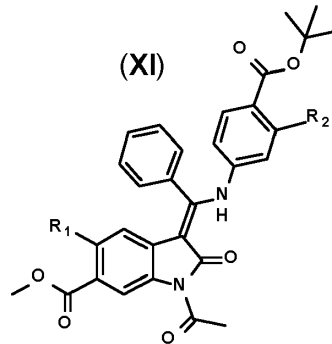
donde

R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me; y

15 R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;

o una sal del mismo; o

un compuesto de fórmula (XI):



20

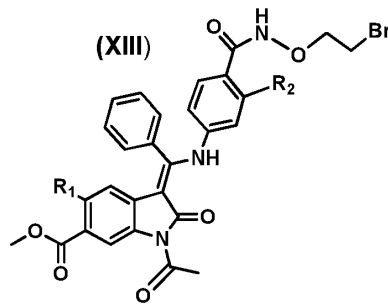
donde

R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me; y

25 R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;

o una sal del mismo; o

un compuesto de fórmula (XIII):

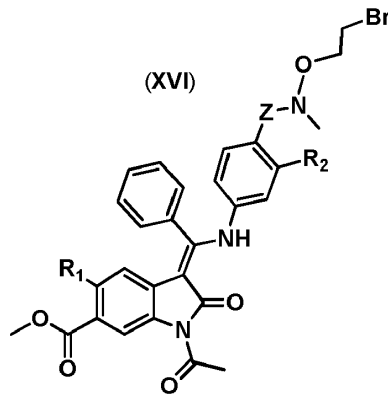


donde

- 5 R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me; y
 R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;

o una sal del mismo; o
 un compuesto de fórmula (XVI):

10

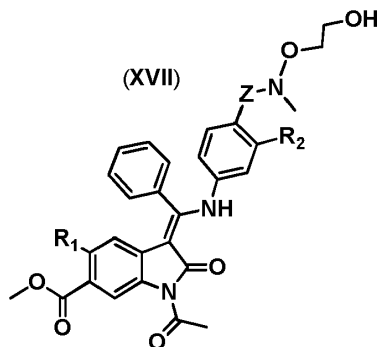


donde

- 15 Z representa CO o SO₂; y
 R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me; y
 R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;

o una sal del mismo; o

- 20 un compuesto de fórmula (XVII):



donde

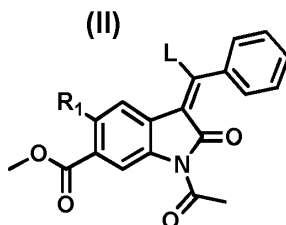
- 25 Z representa CO o SO₂; y
 R₁ representa Me, Et, CH=CH₂, C≡C-H o C≡C-Me; y

R₂ representa H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₈cicloalquilo, -CH₂-(C₃-C₈cicloalquilo), halógeno o ciano;

o una sal del mismo.

5 18. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):



10

donde

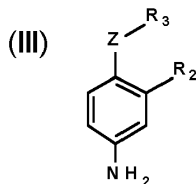
R₁ es como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

15

L representa -OC₁-C₄ alquilo;

o una sal del mismo;

con un compuesto de fórmula (III):



20

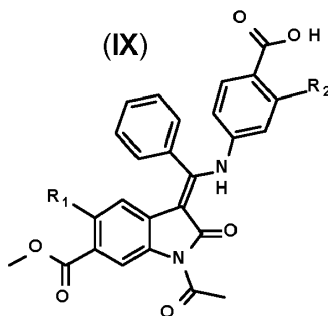
donde

R₂, R₃ y Z son como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

o una sal del mismo; o

25

b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IX):



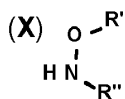
30

donde

R₁ and R₂ son como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

o una sal del mismo; con un compuesto de fórmula (X):

35

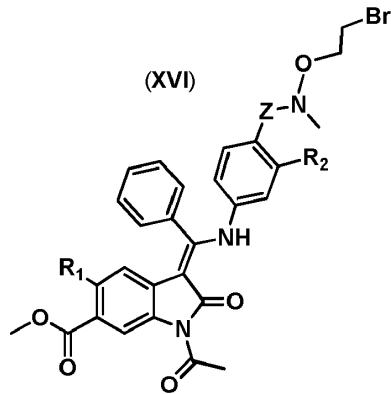


donde

- 5 R' representa Y₁-R₅ como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;
 R'' representa Y₁-R₄ como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

o una sal del mismo; o

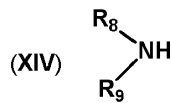
c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (XVI):



donde

- 15 R₁ and R₂ son como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

o una sal del mismo; con un compuesto de fórmula (XIV):



donde

R₈ y R₉ son como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o NR₈R₉ representa un heterociclo alifático de 4 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de entre O, N y S, como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

o una sal del mismo.

Figura 1

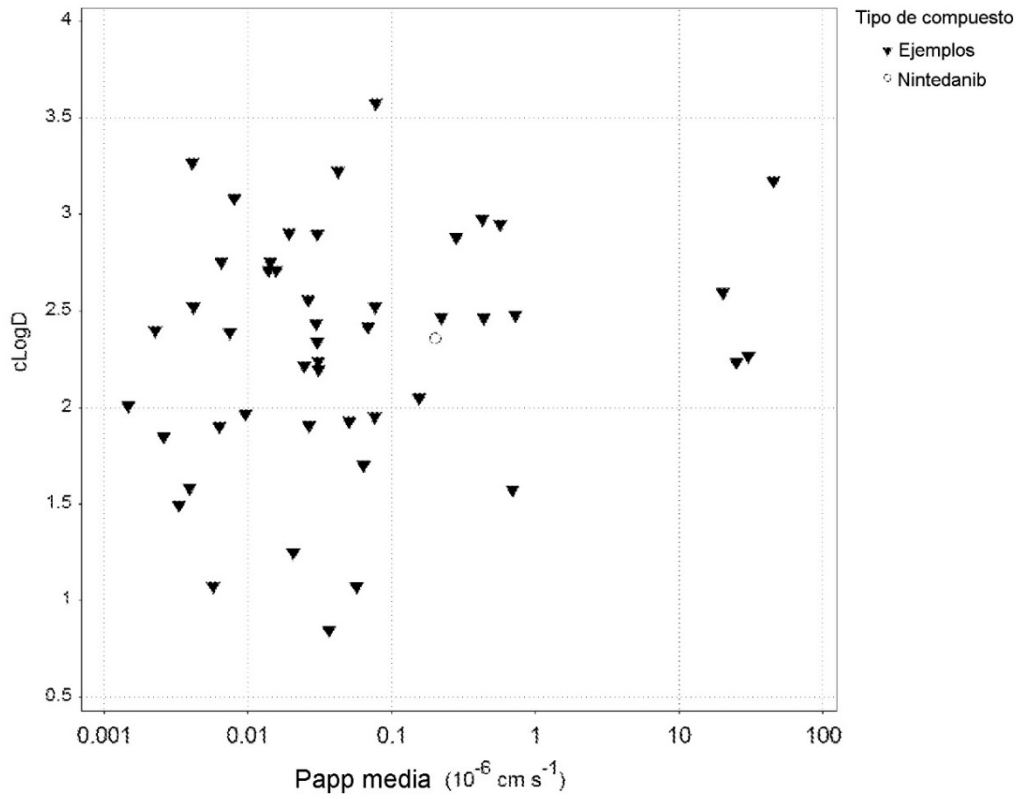


Figura 2

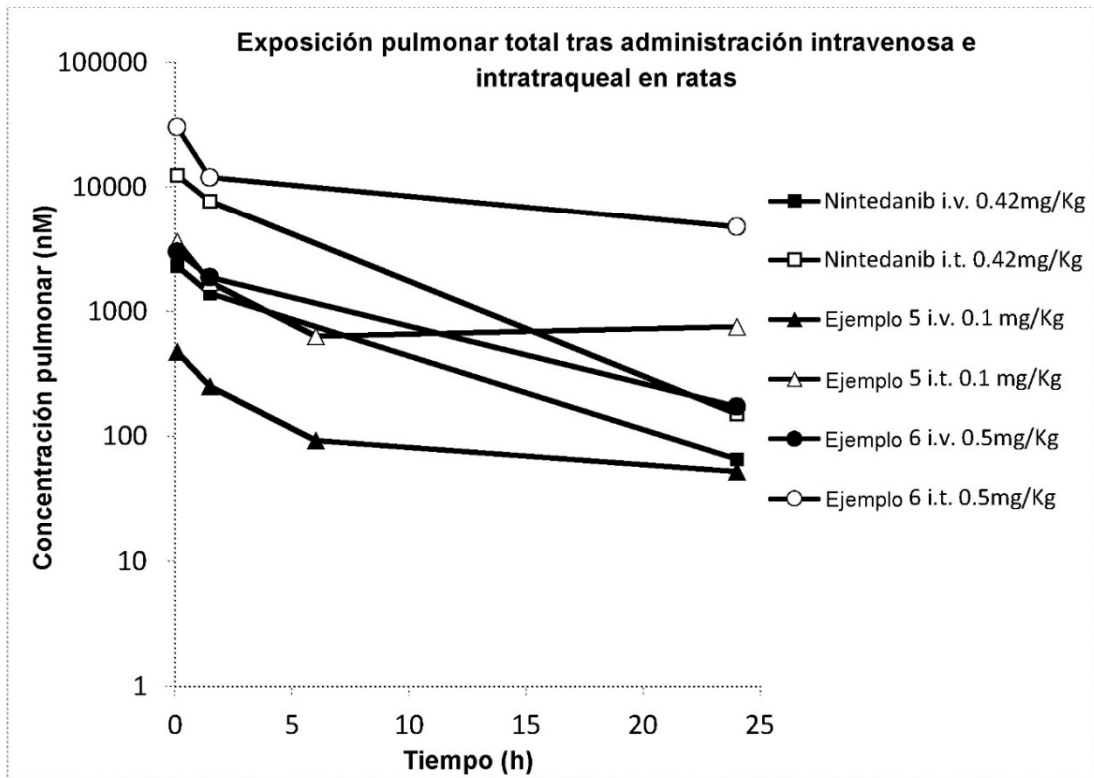


Figura 3

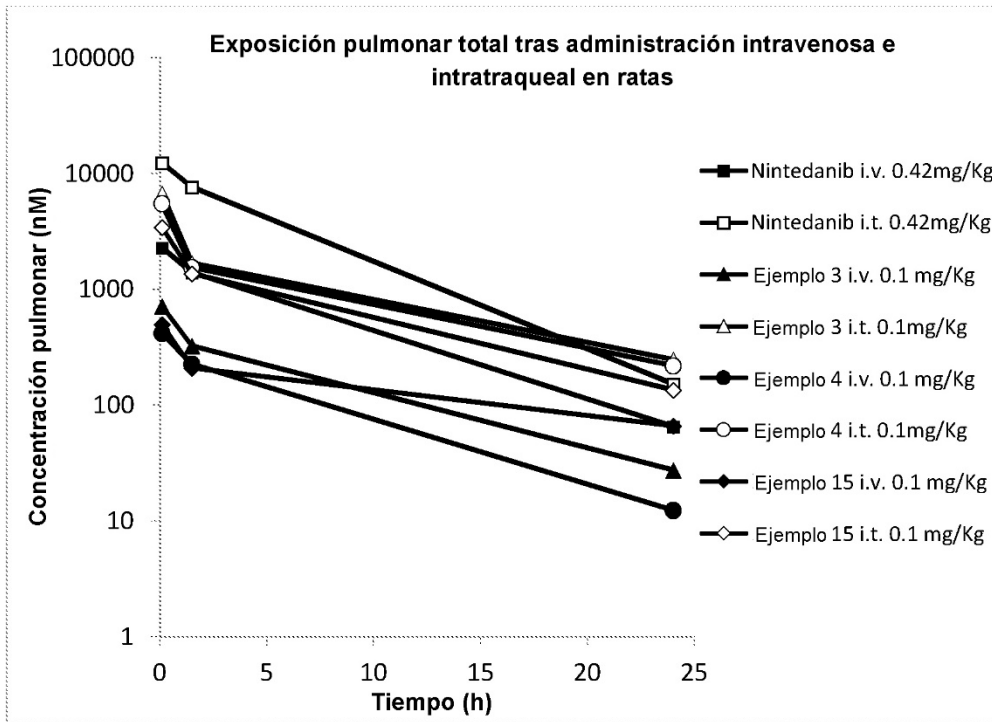


Figura 4

