

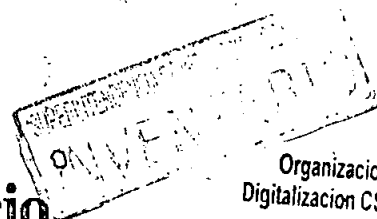


CSA220143

QF



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



Organización y
Digitalización CSA Ltda

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

08-77498

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS
DE USO DE LOS MISMOS"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07D 231/40 y A61P 29/00

71. SOLICITANTE ARRAY BIOPHARMA INC.

DOMICILIO BOULDER, ESTADO DE COLORADO,
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 25 JUL. 2008

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-077498- -00000-0000

Fecha: 2008-07-25 16:41:04 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **ARRAY BIOPHARMA INC.**

Dirección: 3200 Walnut Street, Boulder,
CO 80301, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: Boulder, Estado
de Colorado, Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: Estado de
Delaware, Estados Unidos de América.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: GRONEBERG, Robert; BURGESS, Laurence, E.; HARVEY, Darren; LAIRD,
Ellen; MUNSON, Mark; RIZZI, James; RODRIGUEZ, Martha; EARY, Charles, Todd y
WATSON, Daniel.

Dirección: 958 Yellow Pine Avenue, Boulder, CO 80304; 405 Oakwood Place, Boulder,
CO 80304; 3250 West Fairview Place, Denver, CO 80211; 2435 Mallard Circle, Longmont,
CO 80504; 513 Cactus Court, Louisville, CO 80027; 7180 Longview Drive, Longmont, CO
80503; 3549 Larkspur Drive, Longmont CO 80503; 4214 Da Vinci Drive, Longmont, CO
80503 y 315 North Cherrywood Drive, Lafayette, CO 80026.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2007/002272

Fecha: 26/01/07

Publicación Internacional No. WO 2007/089646 A1

Fecha: 09/08/07

⑥

Título (54) "INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS"

⑦

Clasificación Internacional (51) C07D 231/40 y A61P 29/00

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

31/01/06

(31) Número de Solicitud

60/763,712

⑨

Comprobante de Pago No. 08-57,497

Fecha: Julio 18 de 2008

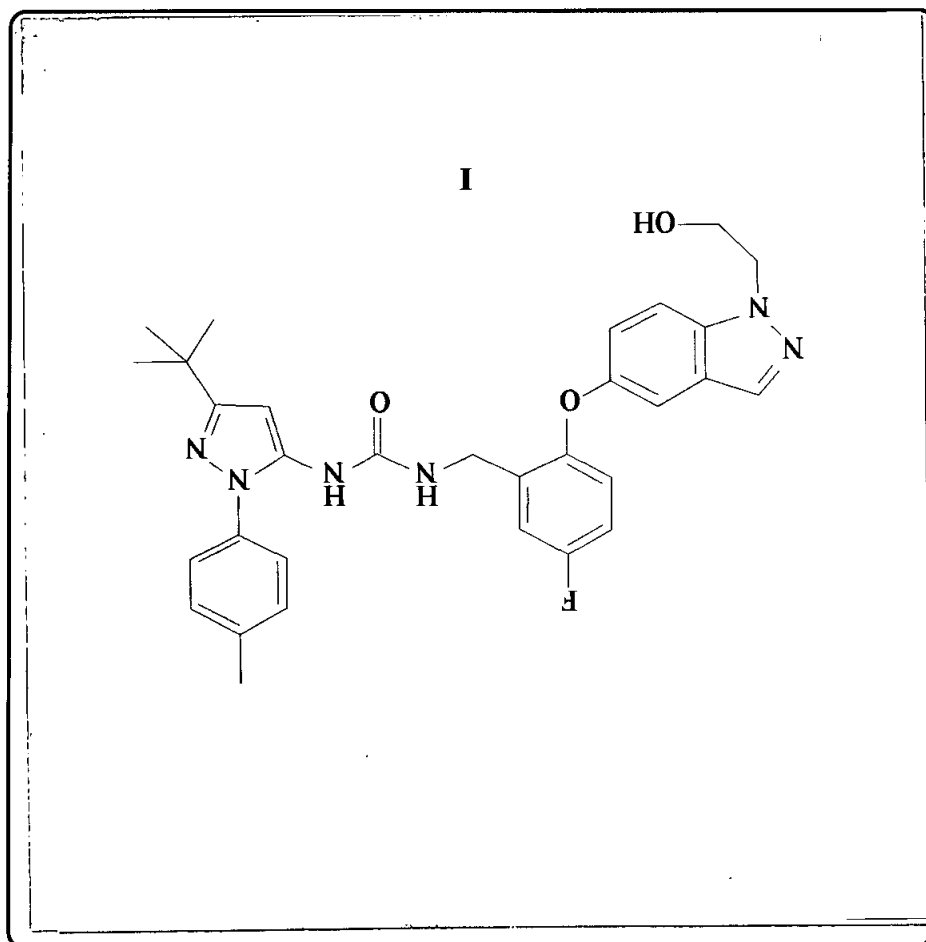
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☐ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☒ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional, Publicación y Opinión Escrita.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-077498- -00000-0000

Fecha: 2008-07-25 16:41:04 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 57,497
FECHA : JULIO 18 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
AREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	1859832	18/07/2008	6,734,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
	TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDADA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDADA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-07-18-452
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

PODER

Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Dado y firmado este día 22 de junio de 2006.

(firma: ilegible)

John R. Moore

Vicepresidente y Asesor Legal General

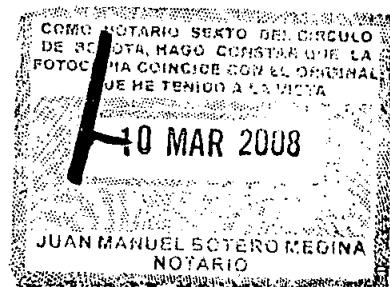
Array BioPharma Inc.

Certificado Notarial (Sociedad), documento también escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)

Mi comisión expira el 15 de octubre de 2007

Sello Notarial.



Sello

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

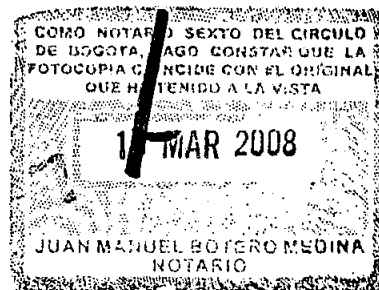
1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por Susan E Elseberry
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de Susan E Elseberry, Notario Público, Estado de Colorado

CERTIFICADO

5. en Denver, Colorado
6. este día 28 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. Certificado No. 119914
9. Sello/Estampilla
10. Firma: (ilegible)
- Sello del Estado de Colorado

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 18 de julio de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



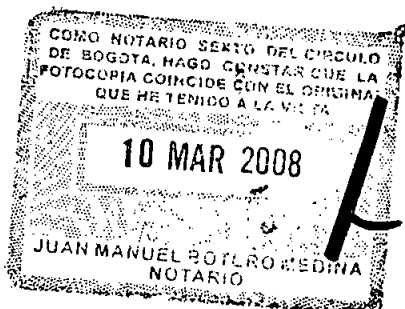
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 MAR 21 P 12:13

JEFES DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

466642
Anita Escobar
CUBA TRAMITADA EN EL
DOCUMENTO DE CUBA
LAS FUNCIONES INDICADAS





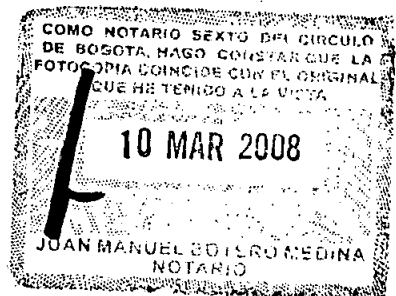
APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by SUSAN E ELSBERRY
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the SUSAN E ELSBERRY, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 28th day of June, 2006
7. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
8. Certificate Number 119914.
9. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis



Los abajo firmados,

Array BioPharma Inc. Una sociedad organizada y existente bajo las leyes del con domicilio en Estado de Delaware, E.U.A

3200 Walnut Street, Boulder, CO 80301

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado el 22 de Junio, 2006

The undersigned,

Array BioPharma Inc. A Corporation organized and existing under the laws of the State of Delaware domiciled at United States of America.

3200 Walnut Street, Boulder, CO 80301

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

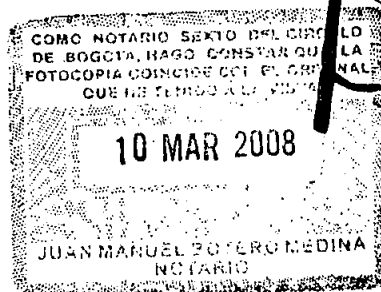
Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 22nd day of June, 2006

John R. Moore
Vice President & General Counsel
Array BioPharma Inc.

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estado de Colorado (ss)
 Condado de Boulder
 Hoy 22 de Junio de 2006 compareció
 John R. Moore, a quien conozco y
 de quien me consta que firmó el anterior documento,
 y quien debidamente juramentado declaró y dijo que
 él es Vicepresidente Y asesor General
 de Array BioPharma Inc.,
 la compañía nombrada en
 el documento que antecede, una sociedad
 debidamente organizada y existente conforme a las
 leyes del Estado de Delaware
 , domiciliada en la ciudad de Boulder
 Condado de

Estado de Colorado, Estados Unidos de América
 legalmente constituida para un período de duración
 que aún no ha terminado, que ejerce su objeto
 social; conforme a las leyes del Estado de

que el declarante está autorizado por dicha
 Compañía para conferir este poder; que el sello
 estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en
 representación de la expresada Compañía, es el
 sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se
 confiere este instrumento está comprendido dentro
 del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de
 incorporación firmados en Boulder

Estado de Colorado, con fecha 21 de Nov. 2000
 certifica que de conformidad con la legislación de
 dicho Estado la anterior declaración juramentada es
 prueba suficiente de que los hechos sobre que ella
 versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

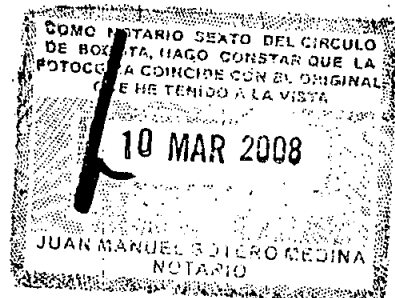
State of Colorado (ss)
 County of Boulder
 On this 22 day of June, 2006,
 personally John R. Moore
 came
 to me known, and known to me to be the person who
 signed the foregoing instrument, who being by me
 duly sworn did depose and say that he is the Vice
President, General Counsel of Array BioPharma Inc.
 the company named
 within, a Corporation organized and existing under
 the laws of the State of
 domiciled at the City of Boulder
 County of Boulder State Co of
United States of America

legally constituted for a period
 of tenure not yet expired, which exercises its
 corporate purposes according to the laws of the State
 of Delaware; that the
 deponent is authorized by said Company to confer
 this power of attorney; that the seal affixed hereunto
 by the deponent in the name and on behalf of said
 Corporation is the corporate seal thereof; and that
 the purpose for which this instrument is granted is
 included within the corporate purposes of the
 Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles
 of Incorporation of said Corporation executed at
Boulder State of Colorado, under date of
November 21, 2000, and hereby
 certifies that under the laws of said State the
 foregoing acknowledgment is sufficient proof that the
 facts therein contained are true, which he attests.

Juan E. Cisneros

My Commission Expires
 October 15, 2007



JOSE LLOREDA CAMACHO & CO. S.A.
ABOGADOS

CALLE 72 No. 5-83 5o. PISO

APARTADO AEREO 12304

TELEFAX: 606 9701 - 6069702 - 606 9703 - 606 9704

BOGOTA, D.C. - COLOMBIA

ARRAY BIOPHARMA INC.

SOLICITUD DE PATENTE PCT

SOLICITUD INTERNACIONAL No.PCT/US2007/002272

ARTE FINAL (1)

La definición de los aspectos operativos suele facilitarse si los diferentes productos del proyecto se organizan de manera secuencial en el tiempo y se van resolviendo ordenadamente.

A continuación estudiaremos, un poco más de cerca, cómo resolver los aspectos operativos:

8.2 DEFINIR EL ALCANCE DEL PROYECTO

El alcance del proyecto es una de las decisiones más trascendentales de los proyectistas, pues determina la calidad y cantidad de los recursos requeridos, los tiempos de operación y el costo del proyecto. Al precisar el tamaño que darán a su propuesta los proyectistas estarán asumiendo que son realmente capaces de producir una cierta cantidad de bienes o servicios durante la vigencia del proyecto y que se van a comprometer a hacerlo. Con base en este análisis el proyectista decidirá si producirá por sí mismo los productos finales e intermedios requeridos o los contratará con terceros.

La capacidad del proyecto para lograr los resultados previstos

puede valorarse desde tres puntos de vista:

- **Capacidad necesaria:** Corresponde al máximo nivel de producción o de prestación del servicio que se requerirá para resolver el problema. Es decir, qué tanto producto o servicio necesitamos entregar al terminar el proyecto.
- **Capacidad instalada:** Corresponde a la capacidad máxima disponible de manera permanente, propia o de terceros. En otras palabras, qué tanto de los resultados requeridos estamos en condiciones de entregar con nuestros recursos actuales.
- **Capacidad utilizable:** En ocasiones no toda la capacidad instalada puede destinarse al proyecto. La capacidad utilizable es la fracción de la capacidad instalada que realmente se puede aplicar en el proyecto.

Para definir el alcance de su propuesta, los proyectistas requieren dos bloques de información:

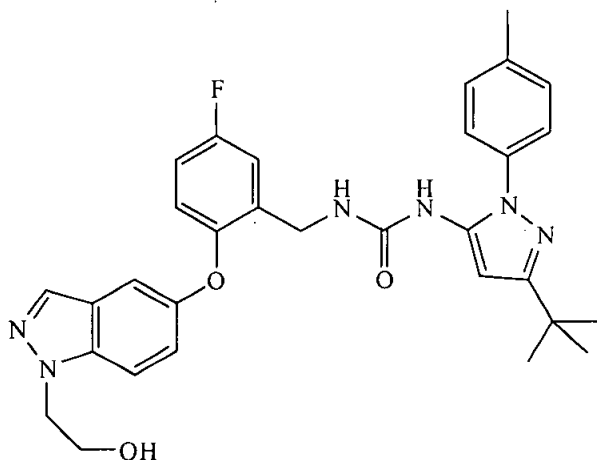
- Una buena estimación de la cantidad de productos finales e intermedios requeridos para solucionar el problema, calculados por unidad de tiempo. Si se trata, por ejemplo, de un servicio de salud, el número de

(21) No.° de solicitud:				(51) Int Cl: C07D 231/40 y A61P 29/00	
(22) Fecha de solicitud: 25-07-08				(71) Solicitante(s) ARRAY BIOPHARMA INC.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es) GRONEBERG, Robert; BURGESS, Laurence, E.; HARVEY, Darren; LAIRD, Ellen; MUNSON, Mark; RIZZI, James; RODRIGUEZ, Martha; EARY, Charles, Todd y WATSON, Daniel.	
	60/763,712	31-01-06	US	(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 31-08-08				(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT				Fecha: 09/08/07	
Fecha de presentación de la solicitud: 26/01/07				N° publicación: WO 2007/089646 A1	
No. de solicitud PCT/US2007/002272					
(54) Titulo: "INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS"					

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1:

El compuesto que tiene la Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA

PATENTE DE INVENCION ____ PCT X MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____

1) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 25-07-08

1) Clasificación Internacional: C07D 231/40 y A61P 29/00

1) Solicitante(s) ARRAY BIOPHARMA INC.

2) Inventor(es) GRONEBERG, Robert; BURGESS, Laurence, E.; HARVEY, Darren; LAIRD, Ellen; MUNSON, Mark; RIZZI, James; RODRIGUEZ, Martha; EARY, Charles, Todd y WATSON, Daniel.

1) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE

1) Prioridad	(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País
	60/763,712	31-01-06	US

1) Fecha límite inicio fase nacional: 31-08-08

(87) Publicación internacional

1) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: 09-08-07

Fecha de presentación de la solicitud: 26-01-07

N° publicación: WO 2007/089646 A1

No. de solicitud PCT/US2007/002272

1) Título: "INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS"

N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 25-07-08

Clasificación Internacional: C07D 231/40 y A61P 29/00

Solicitante(s) ARRAY BIOPHARMA INC.

Inventor(es) GRONEBERG, Robert; BURGESS, Laurence, E.; HARVEY, Darren; LAIRD, Ellen; ISON, Mark; RIZZI, James; RODRIGUEZ, Martha; EARY, Charles, Todd y WATSON, Daniel.

Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE

Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	60/763,712	31-01-06	US

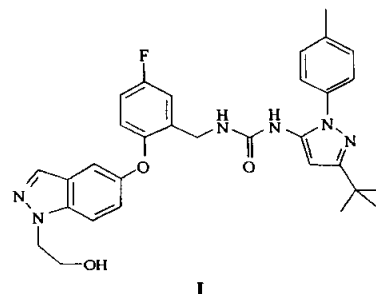
Fecha límite inicio fase nacional: 31-08-08
Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 26-01-07
No. De solicitud **PCT/US2007/002272**

(87) Publicación internacional:
Fecha: 09-08-07
No. Publicación: **WO 2007/089646 A1**

Título: "INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS"

Resumen:
indicación número 1:

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:
 VIKSNINS HARRIS & PADYS PLLP
 Attn. Harris, Robert J.
 P.O. Box 111098
 St. Paul, MN 55111-1098
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

RECEIVED
 JUN 07 2007

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
 THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
 THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
 SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing (day/month/year) 31/05/2007	
Applicant's or agent's file reference 02020.005WO1	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US2007/002272	International filing date (day/month/year) 26/01/2007
Applicant ARRAY BIOPHARMA INC.	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
- ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Jaap Hurenkamp
--	--

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 02020.005W01	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/US2007/002272	International filing date (day/month/year) 26/01/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 31/01/2006
Applicant ARRAY BIOPHARMA INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the International search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2007/002272

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D231/40 C07D231/56 A61K31/416 A61P29/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/078116 A (ARRAY BIOPHARMA INC [US]; MUNSON MARK [US]; MARESKA DAVID A [US]; KIM) 16 September 2004 (2004-09-16) cited in the application examples 94,138	1-22
X	WO 2005/023761 A (KEMIA INC [US]; BOMAN ERIK [US]; CEIDE SUSANA C [US]; DAHL RUSSELL [US]) 17 March 2005 (2005-03-17) carbamate esters mentioned on: page 109, line 17 page 119, line 14	22

☐

Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 May 2007

Date of mailing of the international search report

31/05/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

De Jong, Bart

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/002272

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 7, 8, 14-16 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2007/002272

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004078116 A	16-09-2004	AU 2004218463 A1	16-09-2004
		CA 2517517 A1	16-09-2004
		EP 1606283 A2	21-12-2005
		IS 8037 A	21-09-2005
		JP 2006519259 T	24-08-2006
		KR 20050106484 A	09-11-2005
		MX PA05009459 A	17-05-2006
		US 2004192653 A1	30-09-2004
WO 2005023761 A	17-03-2005	AU 2004270733 A1	17-03-2005
		BR PI0414313 A	07-11-2006
		CA 2538820 A1	17-03-2005
		EP 1670787 A2	21-06-2006
		JP 2007505127 T	08-03-2007
		MX PA06002853 A	14-06-2006

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
9 August 2007 (09.08.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/089646 A1

(51) International Patent Classification:
→ C07D 231/40 (2006.01) A61K 31/416 (2006.01)
C07D 231/56 (2006.01) → A61P 29/00 (2006.01)

(74) Agent: HARRIS, Robert, J.; P.O. Box 111098, Saint Paul, MN 55111-1098 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2007/002272

(22) International Filing Date: 26 January 2007 (26.01.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/763,712 31 January 2006 (31.01.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **ARRAY BIOPHARMA INC.** [US/US]; 3200 Walnut Street, Boulder, CO 80301 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(71) Applicants and

(72) Inventors: **GRONEBERG, Robert** [US/US]; 958 Yellow Pine Avenue, Boulder, CO 80304 (US). **BURGESS, Laurence, E.** [US/US]; 405 Oakwood Place, Boulder, CO 80304 (US). **HARVEY, Darren** [GB/US]; 3250 West Fairview Place, Denver, CO 80211 (US). **LAIRD, Ellen** [US/US]; 2435 Mallard Circle, Longmont, CO 80504 (US). **MUNSON, Mark** [US/US]; 513 Cactus Court, Louisville, CO 80027 (US). **RIZZI, James** [US/US]; 7180 Longview Drive, Longmont, CO 80503 (US). **RODRIGUEZ, Martha** [US/US]; 3549 Larkspur Drive, Longmont, CO 80503 (US). **EARY, Charles, Todd** [US/US]; 4214 Da Vinci Drive, Longmont, CO 80503 (US). **WATSON, Daniel** [GB/US]; 315 North Cherrywood Drive, Lafayette, CO 80026 (US).

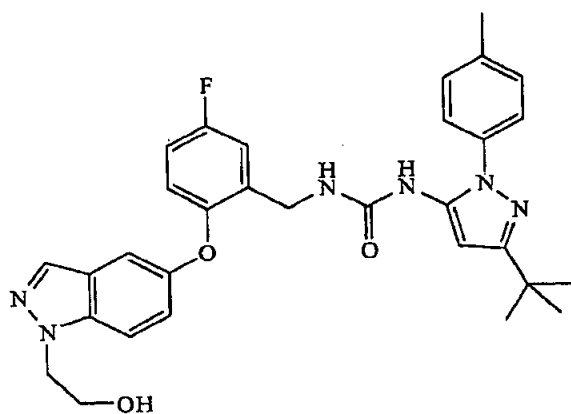
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

[Continued on next page]

(54) Title: KINASE INHIBITORS AND METHODS OF USE THEREOF



(I)

(57) Abstract: The compound of Formula (I) and pharmaceutically acceptable salts and prodrugs thereof are useful in the treatment and prevention of various disorders mediated by kinases.

WO 2007/089646 A1



For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2007/002272

International filing date (day/month/year)
26.01.2007

Priority date (day/month/year)
31.01.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D231/40 C07D231/56 A61K31/416 A61P29/00

Applicant
ARRAY BIOPHARMA INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaag 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

De Jong, Bart

Telephone No. +31 70 340-2833



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2007/002272

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/002272

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 7,8,14-16

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 7,8,14-16 (with respect to industrial application) relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/002272

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☐ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☐ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☐ not paid additional fees
2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
 - ☐ the parts relating to claims Nos.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-21</u>
	No: Claims	<u>22</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-21</u>
	No: Claims	<u>22</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-6,9-13,17-22</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item III.

Claims 7,8,14-16 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

Re Item IV.

According to PCT guidelines, there is no unity in case different intermediates are claimed for different structural parts of the final product. This is clearly the case in the present application where compounds of formulas II and III are claimed in claims 9 and 22. See pages 79,80 of the PCT Guidelines dealing with the unity of intermediates and final products.

Re Item V.

Reference is made to the following documents:

D1: WO 2004/078116 A (ARRAY BIOPHARMA INC [US]) 16 September 2004 cited in the application

D2: WO 2005/023761 A (KEMIA INC [US]) 17 March 2005

1) The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claim 22 is not new in the sense of Article 33(2) PCT:

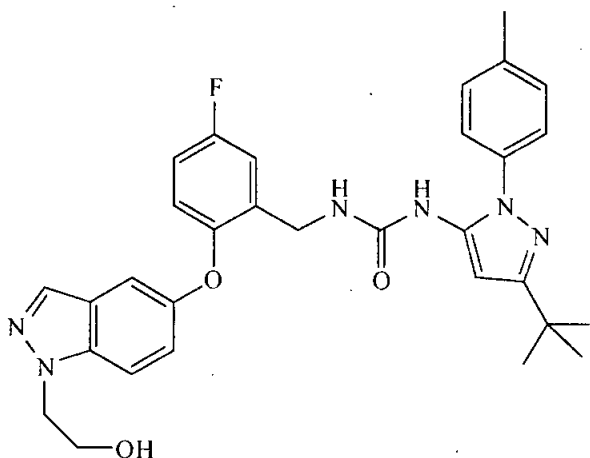
Document D2 discloses carbamate esters on page 109, line 17 and page 119, line 14 which are novelty destroying for claim 22.

2) The application relates to a kinase inhibitor of formula I. This compound represents a novel selection from the compound disclosed in D1. Comparative tests on pages 34,35 show that this compound has a higher activity towards certain protein kinases than the closest compounds disclosed in D1. Therefore the compound of formula I, methods for its preparation and intermediates of formula II are considered to be inventive.

INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

RESUMEN – OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

El compuesto de Fórmula I



I

y profármacos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo son útiles en el tratamiento y la prevención de varios desórdenes mediados por quinasas.

INHIBIDORES DE QUINASA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos número 60/763,712 presentada en Enero 31, 2006, la cual es incorporada aquí en su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1. Campo de la Invención

[0002] Esta invención se relaciona con inhibidores de quinasa, composiciones farmacéuticas que contienen los inhibidores, y métodos para preparar estos inhibidores. Los inhibidores de quinasa de esta invención son útiles para el tratamiento de la inflamación, osteoartritis, artritis reumatoidea, cáncer, enfermedades autoinmunes, y otras enfermedades mediadas por citoquinas.

2. Descripción del estado del arte

[0003] Un gran número de condiciones inflamatorias crónicas y agudas han sido asociadas con la sobreproducción de citoquinas pro-inflamatorias. Tales citoquinas incluyen, pero no se limitan a, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8) e interleucina 6 (IL-6). La artritis reumatoidea (AR) es una enfermedad crónica donde el TNF- α y la IL-1 β están implicados en el inicio de las enfermedades y en la progresión de la destrucción de huesos y articulaciones observada con esta condición debilitante. Los tratamientos terapéuticos para la AR aprobados recientemente han incluido al receptor soluble de TNF- α (ENBREL™) y el antagonista del receptor de IL-1 (ANAKINRA™). Estos tratamientos trabajan bloqueando la habilidad de sus respectivas citoquinas para unirse a sus receptores naturales. Los métodos alternativos para tratar las enfermedades mediadas por citoquinas están siendo investigados en la actualidad. Uno de dichos métodos involucra la inhibición de la vía de señalización que regula la síntesis y la producción de citoquinas pro-inflamatorias tales como la p38.

[0004] La P38 (que también se conoce como CSBP o RK) es una proteína serina/treonina quinasa activada por mitógenos (MAPK) que ha mostrado regular las citoquinas pro-inflamatorias. La MAPK P38 fue identificada por primera vez como una quinasa que tras el tratamiento con lipopolisacárido (LPS) se fosforila en tirosina en monocitos de ratón. Una conexión entre la MAPK p38 y la respuesta de las células a las citoquinas fue establecida por primera vez por

Saklatvala y cols., (*Cell*, 1994, 78:1039-1049), quienes mostraron que la IL-1 activa una cascada de proteínas quinasas que resulta en la fosforilación de la pequeña proteína de choque térmico, Hsp27, probablemente mediante la proteína quinasa activada por proteína quinasa activada por mitógenos 2 (MAPKAP quinasa-2). El análisis de las secuencias de péptidos derivadas de la quinasa purificada indicó que ésta estaba relacionada con la MAPK p38 activada por LPS en monocitos de ratón (Han, J., y cols., *Science*, 1994, 265:808-811). Al mismo tiempo, se mostró que la MAPK p38 era activada mediante una quinasa corriente arriba en respuesta a una variedad de estreses celulares, incluyendo exposición a la radiación UV y choque osmótico, y se confirmó la identidad de la quinasa que fosforila directamente la Hsp27: MAPKAP quinasa-2 (Rouse, J., y cols., *Cell*, 1994, 78:1027-1037). Posteriormente, se mostró que la MAPK p38 era el blanco molecular de una serie de compuestos de piridinilimidazol que inhibían la producción de TNF a partir de monocitos humanos desafiados con LPS (Lee, J., y cols., *Nature*, 372:739-746). Este fue un descubrimiento clave y llevó al desarrollo de varios inhibidores selectivos de la MAPK p38 y la elucidación de su papel en la señalización de citoquinas.

[0005] Ahora se sabe que múltiples formas de la MAPK p38 (α , β , γ , δ), codificadas cada una por un gen separado, forman parte de una cascada quinasa involucrada en la respuesta de las células a una variedad de estímulos, incluyendo estrés osmótico, luz UV y eventos mediados por citoquinas. Se piensa que estas cuatro isoformas de la p38 regulan diferentes aspectos de la señalización intracelular. La activación de la p38 es parte de una cascada de eventos de señalización que conducen a la síntesis y producción de citoquinas pro-inflamatorias tales como TNF- α . La P38 funciona fosforilando corriente abajo sustratos que incluyen otras quinasas y factores de transcripción. Los agentes que inhiben la MAPK p38 han mostrado bloquear la producción de citoquinas incluyendo, pero sin limitarse a, modelos *in vitro* e *in vivo* de TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-1 β (Adams, J. L., y cols., *Progress in Medicinal Chemistry*, 2001, 38:1-60).

[0006] La Abl (también conocida como Ableson) es una tirosina quinasa que se expresa en células hematopoyéticas y está implicada en la progresión de varios tumores líquidos incluyendo leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda (ALL). La transformación es un resultado de una translocación cromosómica, conocida como el cromosoma Filadelfia. Esto lleva a una quimera activada constitutivamente entre Abelson y el gen de región de fractura (BCR) -- la

proteína Abl-BCR. GLEEVEC®, también conocido como Imatinib (Novartis) es un potente inhibidor de la Abl y es usado en la actualidad para tratar pacientes con CML (*N. Engl. J. Med.*, 2001, 344:1031-1037). Este fármaco se ha vuelto el estándar de elección para esta enfermedad mortal y también se está viendo en una variedad de otros tipos de cáncer incluyendo tumores estromales gastrointestinales (GIST).

[0007] Hay evidencia de que los fibroblastos responden a la proteína del factor de crecimiento TGF- β estimulando la vía Abl y llevan a cambios morfológicos indicativos de fibrosis; por lo tanto la Abl podría jugar un papel en la patogénesis de enfermedades fibróticas como la fibrosis pulmonar idiopática. Leof y cols. (*J. Clin. Invest.*, 2004, 114(9) 1308-1316) han demostrado la eficacia pre-clínica de GLEEVEC® en un modelo de fibrosis pulmonar mediado por bleomicina en ratones. GLEEVEC® está siendo evaluado en pacientes con fibrosis pulmonar.

[0008] El TEK (también conocido como Tie-2) es otro receptor tirosina quinasa expresado únicamente en células endoteliales el cual ha mostrado jugar un papel en la angiogénesis. El enlace del factor angiopoyetina-1 resulta en la autofosforilación del dominio quinasa del TEK y resulta en un proceso de transducción de señal que parece mediar la interacción de células endoteliales con células de soporte peri-endoteliales, facilitando de esta manera la maduración de los vasos sanguíneos recién formados. Por otra parte, el factor angiopoyetina-2 parece antagonizar la acción de la angiopoyetina-1 en el TEK e interrumpe la angiogénesis (Maisonpierre y cols., *Science*, 1997, 277:55-60). El Tie2 está regulado positivamente en los vasos angiogénicos tumorales (Trogan, E. *Br. J. Cancer*, 1998, 77:51-56) y hay evidencia que puede jugar un papel de soporte en cánceres hematopoyéticos (L. Naldini y cols., *Cancer Cell*, 2005, 8:211-226; Suda, T. y cols., *Cell*, 2004, 118:149-161). Adicional a su posible papel sobre el cáncer, la angiogénesis también puede estar implicada en enfermedades como artritis reumatoidea (AR), psoriasis y la progresión de patologías conducidas por la inflamación. La formación de pannus, la lesión destructiva responsable de la progresión artrítica es en parte conducida por la formación de nuevos vasos sanguíneos y una reciente publicación de Lin, C. y cols. (*Arthritis y Rheumatism*, 2005, 52(5):1585-1594) demuestra el papel patológico del Tie2 en modelos de AR de artritis en ratón inducida por colágeno. Por lo tanto, la inhibición del Tie2 podría proveer un efecto benéfico contra enfermedades proliferativas e inflamatorias.

[0009] Otras numerosas quinasas han sido implicadas en la progresión de enfermedades proliferativas como el cáncer. Entre estas, numerosas proteínas miembro de la familia Src han mostrado jugar un papel similar al de Src y pueden proveer vías de señalización paralelas durante la proliferación celular incontrolada. Ejemplos primarios incluyen las tirosina quinasas Lyn, Fyn, Lck y Hck. Lyn y Hck han sido implicadas en la progresión de leucemia linfoblástica aguda de células B (B-ALL), un cáncer hematopoyético de células B (Li, S. y cols. *Nat Genet.*, 2004 36(5):453-461).

[0010] La familia Eph (secuencia amplificada de hepatoma que produce eritropoyetina) de receptores tirosina quinasa se une a efrinas lo cual lleva a numerosos procesos celulares. Las Ephs parecen jugar un papel modulando la adhesión, motilidad e invasividad de células tumorales, y alguna evidencia demuestra un papel activo de las Ephs y las efrinas en la neo-vascularización durante los procesos patológicos. Los receptores Eph A se sobre-expresan en la vasculatura de tumor gástrico, de pulmón y de riñón, y las proteínas dominantes negativas solubles, EphA2 o A3 han mostrado modular la angiogénesis tumoral y la progresión in vivo (Lackmann M. y cols., *IUBMB Life*, 2005, 57(6):421-31).

[0011] Los factores de crecimiento endotelial vascular y sus receptores cognados, por ejemplo el KDR (VEGFR2) y el FLT1 (VEGFR1) son reguladores claves de la angiogénesis. El fármaco terapéutico proteínico AVASTIN® es promisorio en cáncer de colon y trabaja a través de la vía del VEGFR. SUTENT/SU11248 (malato de sunitinib) (Pfizer) es un potente inhibidor de KDR y ha mostrado resultados promisorios contra GIST y carcinomas de células renales.

[0012] Los monocitos sanguíneos periféricos (PBMCs) han mostrado expresar y secretar citoquinas pro-inflamatorias al ser estimulados con lipopolisacarido (LPS) *in vitro*. Los inhibidores de la P38 bloquean eficientemente este efecto cuando los PBMCs son pretratados con dichos compuestos de manera previa a la estimulación con LPS (Lee, J.C., y cols., *Int. J. Immunopharmacol.*, 1988, 10:835-843). La eficacia de los inhibidores de la p38 en modelos en animales de enfermedad inflamatorias ha impulsado una investigación de el(los) mecanismo(s) subyacente(s) los cuales podrían contribuir al efecto de estos inhibidores. Se ha investigado el papel de la p38 en la respuesta de las células a IL-1 y TNF en varios sistemas celulares relevantes a la respuesta inflamatoria usando un inhibidor de piridinil imidazol: células

endoteliales e IL-8 (Hashimoto, S., y cols., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 293:370-375), fibroblastos e IL-6/GM-CSF/PGE2 (Beyaert, R., y cols., *EMBO J.*, 1996, 15:1914-1923), neutrófilos e IL-8 (Albanyan, E. A., y cols., *Infect. Immun.*, 2000, 68:2053-2060) macrófagos e IL-1 (Caivano, M. y Cohen, P., *J. Immunol.*, 2000, 164:3018-3025), y células de músculo liso y RANTES (Maruoka, S., y cols., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999, 161:659-668). Los efectos destructores de diversos estados de la enfermedad son causados por la sobreproducción de citoquinas pro-inflamatorias. La habilidad de los inhibidores de p38 para regular esta sobreproducción los hace excelentes candidatos para ser agentes modificadores de enfermedades.

[0013] Los inhibidores conocidos de la MAPK p38 son activos en una variedad de modelos de enfermedad ampliamente reconocidos. Los inhibidores de la MAPK p38 muestran efectos positivos en varios modelos estándar animales de inflamación incluyendo artritis en ratas inducida por colágeno. (Jackson, J.R., y cols., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998, 284:687-692); artritis en ratas inducida por adyuvante (Badger, A. M., y cols., *Arthritis Rheum.*, 2000, 43:175-183; Badger, A. M., y cols., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, (1996) 279:1453-1461); y edema de pata en ratón inducida por carragenan (Nishikori, T., y cols., *Eur. J. Pharm.*, 2002, 451:327-333). Las moléculas que bloquean la función de la p38 han mostrado ser efectivas en la inhibición de la resorción ósea, inflamación y otras patologías inmunes y basadas en la inflamación, en estos modelos animales.

[0014] Por lo tanto, un inhibidor de quinasa seguro y efectivo proveerá un medio para tratar enfermedades debilitantes que pueden ser reguladas mediante la modulación de una o más quinasas.

[0015] La publicación internacional de la solicitud de patente WO 2004/078116 revela ciertos compuestos como inhibidores de quinasa. Entre estos compuestos se encuentran ciertos derivados de indazol N1-sustituidos que tienen un sustituyente en la posición 5 que contiene un grupo pirazol-5-ilurea. Ejemplos de dichos compuestos incluyen los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 en los cuales el sustituyente N1 es respectivamente un grupo metilo y un grupo 2-hidroxi-2-metilpropilo.

[0016] Se ha encontrado que se pueden obtener compuestos que tienen propiedades particularmente deseables seleccionando el grupo alcohol primario, -

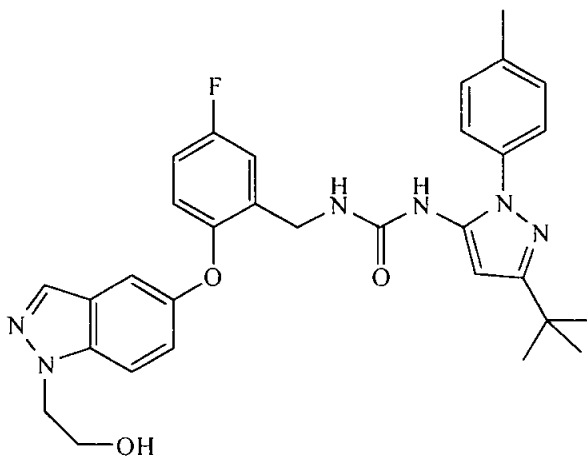
CH₂CH₂OH, como el sustituyente N1, y un sustituyente particular en la posición 5 que contiene un grupo 3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-ilo.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0017] Esta invención provee compuestos que inhiben una o más quinasas y eventos mediados por quinasas tales como la inhibición de la producción de citoquinas, la angiogénesis o la proliferación celular. Tales compuestos tienen utilidad como agentes terapéuticos para enfermedades que pueden ser tratadas mediante la inhibición de las vías de señalización de quinasas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0018] En un aspecto, la invención provee un compuesto que tiene la Fórmula I:



I

[0019] o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0020] El compuesto también puede ser descrito mediante el nombre químico 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea.

[0021] Se encontró que el compuesto de Fórmula I tiene potencia mejorada contra ciertas quinasas. Además, se observó que la solubilidad del compuesto correspondiente en el cual el sustituyente N1 se reemplaza con un grupo éster fosfato de Fórmula -CH₂CH₂OPO₃H es mayor en muchos órdenes de magnitud que aquella del compuesto de Fórmula I. Entonces, el compuesto de Fórmula I posee una posición única para crear profármacos solubles. Más particularmente, como se demuestra aquí más adelante con los datos de prueba, se ha encontrado que el compuesto de Fórmula I es un inhibidor de Abl y Tie2 significativamente más potente que los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 del documento WO 2004/078116. Adicionalmente, los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 del

documento WO 2004/078116 no poseen un grupo alcohol primario que pueda ser derivatizado para dar un profármaco.

[0022] Adicional al compuesto de Fórmula I, la invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables del compuesto, y solvatos del compuesto y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0023] La frase "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o composición es químicamente y/o toxicológicamente compatible con los otros ingredientes que comprende la formulación, y/o el mamífero que está siendo tratado con la misma.

[0024] Un "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de solvente y un compuesto de la invención. Ejemplos de solventes que forman solvatos incluyen, pero no se limitan a, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético, y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo en donde la molécula de solvente es agua.

[0025] De acuerdo con otro aspecto, la presente invención provee el uso de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una condición mediada por quinasa en un mamífero.

[0026] En otro aspecto, la presente invención provee un método para tratar o prevenir una condición mediada por quinasa, que comprende administrar un compuesto de Fórmula I en una cantidad efectiva para tratar o prevenir dicha condición mediada por quinasa.

[0027] Aquí también se proveen profármacos del compuesto de Fórmula I.

[0028] Un "profármaco" es un compuesto que bajo condiciones fisiológicas o mediante solvólisis, puede ser convertido al compuesto especificado o a una sal de dicho compuesto.

[0029] El grupo hidroxilo libre del compuesto de esta invención puede derivatizarse como un profármaco convirtiendo el grupo hidroxilo en un grupo tal como, pero sin limitarse a, un grupo éster fosfato, hemisuccinato, dimetilaminoacetato, o fosforiloximetiloxycarbonilo, como se señala en *Advanced*

Drug Delivery Reviews, 1996, 19, 115. También se incluyen los profármacos de carbamato de grupos hidroxilo, así como los profármacos carbonato, ésteres sulfonato y ésteres sulfato de grupos hidroxilo. También se abarca la derivatización de los grupos hidroxilo como éteres de (aciloxi)metilo y (aciloxi)etilo, en donde el grupo acilo puede ser un éster alquilo opcionalmente sustituido con grupos incluyendo, pero sin limitarse a, funcionalidades éter, amina y ácido carboxílico, o donde el grupo acilo es un éster de aminoácido tal como se describió anteriormente. Los profármacos de este tipo se describen en *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 10. Ejemplos más específicos incluyen el reemplazo del átomo de hidrógeno del grupo alcohol con un grupo tal como alcanoiloxi(C₁-C₆)metilo, 1-(alcanoiloxi(C₁-C₆))etilo, 1-metil-1-(alcanoiloxi(C₁-C₆))etilo, alcóxicarboniloxi(C₁-C₆)metilo, N-alcóxicarbonil(C₁-C₆)aminometilo, succinilo, alcanilo(C₁-C₆), α -aminoalcanilo(C₁-C₄), arilacilo y α -aminoacilo, o α -aminoacil- α -aminoacilo, donde cada grupo α -aminoacilo se selecciona independientemente de los L-aminoácidos existentes en la naturaleza, P(O)(OH)₂, -P(O)(O-alquilo(C₁-C₆))₂ o glicosilo (el radical que resulta de la remoción de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

[0030] Por lo tanto, de acuerdo con otro aspecto, la presente invención provee el uso de un profármaco de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento para el tratamiento con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de una condición mediada por quinasa en un mamífero. En una realización, el profármaco es un profármaco fosfato.

[0031] En otro aspecto, la presente invención provee un método para tratar o prevenir una condición mediada por quinasa en un mamífero con un compuesto de Fórmula I, que comprende administrar a un mamífero un profármaco de un compuesto de Fórmula I en una cantidad efectiva para tratar o prevenir dicha condición mediada por quinasa. En una realización, el profármaco es un profármaco fosfato.

[0032] Por lo tanto, de acuerdo con otro aspecto, la presente invención provee 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)-metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0033] Sin intentar establecerlo como teoría, se cree que el compuesto éster fosfato funciona como un profármaco para el alcohol primario correspondiente.

[0034] Como se describe aquí, se ha encontrado que el éster fosfato del compuesto de Fórmula I tiene particularmente buena solubilidad.

[0035] Una "sal farmacéuticamente aceptable," a menos que se indique de otra manera, incluye sales que conservan la efectividad biológica del correspondiente ácido o base libre del compuesto especificado y no resultan indeseables ni biológicamente ni de ninguna otra manera. Un compuesto de la invención puede poseer un grupo suficientemente ácido, un grupo suficientemente básico, o ambos grupos funcionales, y reaccionar de manera acorde con cualquiera de un gran número de ácidos o bases inorgánicos u orgánicos para formar una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas sales preparadas mediante la reacción de los compuestos de esta invención con un ácido mineral u orgánico o una base inorgánica, dichas sales incluyendo, pero sin limitarse a, sulfatos, piosulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butin-1,4-dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenosulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos, metanosulfonatos, propanosulfonatos, naftalen-1-sulfonatos, naftalen-2-sulfonatos, y mandelatos. Dado que un compuesto de esta invención puede incluir más de un fragmento ácido o básico, los compuestos de esta invención pueden incluir mono, di or tri-sales en un único compuesto.

[0036] Si el compuesto inventivo es una base, la sal farmacéuticamente aceptable deseada puede prepararse mediante cualquier método adecuado disponible en el arte, por ejemplo, mediante el tratamiento de la base libre con un compuesto ácido, por ejemplo un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico tal como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido

glicólico, ácido salicílico, un ácido piranosidilo tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxiácido tal como ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático tal como ácido benzoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico tal como ácido p-toluensulfónico o ácido etanosulfónico, o similares.

[0037] Si el compuesto inventivo es un ácido, la sal farmacéuticamente aceptable deseada puede prepararse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, mediante el tratamiento del ácido libre con una base orgánica o inorgánica. Ejemplos de sales inorgánicas adecuadas incluyen aquellas formadas con metales alcalinos y alcalinotérreos tales como litio, sodio, potasio, bario y calcio. Ejemplos de sales de bases orgánicas adecuadas incluyen, por ejemplo, amonio, dibencilamonio, bencilamonio, 2-hidroxietilamonio, bis(2-hidroxietil)amonio, feniletilbencilamina, dibenciletilendiamina, y sales similares. Otras sales de fragmentos ácidos pueden incluir, por ejemplo, aquellas sales formadas con procaína, quinina y N-metilglucosamina, además de sales formadas con aminoácidos básicos tales como glicina, ornitina, histidina, fenilglicina, lisina y arginina.

[0038] Los compuestos de Fórmula I también incluyen otras sales de tales compuestos que no necesariamente son sales farmacéuticamente aceptables, y las cuales pueden ser útiles como intermediarios para preparar y/o purificar los compuestos de Fórmula I y/o para separar los enantiómeros de los compuestos de Fórmula I.

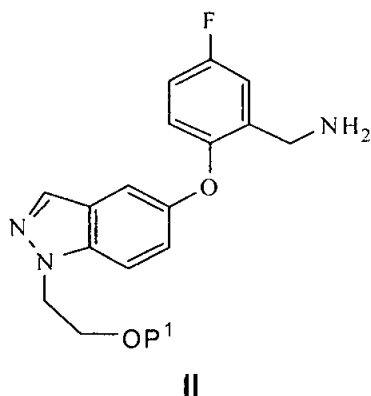
[0039] Esta invención también abarca los compuestos de esta invención marcados isotópicamente los cuales son idénticos a aquellos aquí mencionados, excepto porque uno o más átomos son reemplazados con un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente a la masa atómica o número de masa encontrado usualmente en la naturaleza. Los compuestos de esta invención marcados isotópicamente pueden prepararse por lo general siguiendo procedimientos análogos a aquellos descritos en los Esquemas y/o en los ejemplos aquí adelante, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente.

SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

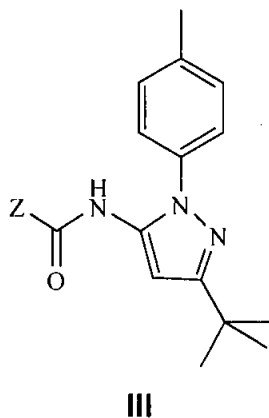
[0040] Los compuestos de esta invención pueden prepararse mediante rutas sintéticas que incluyen procesos análogos a aquellos bien conocidos en las artes químicas, o como se describió en la solicitud internacional de patente, publicación número WO 2004/078116, particularmente a la luz de la descripción aquí contenida. Los materiales de partida generalmente están disponibles de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) o son preparados fácilmente usando métodos bien conocidos para aquellos versados en el arte (e.g., preparados mediante métodos generalmente descritos en Louis F. Fieser y Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, v. 1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999 ed.), o *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, incluyendo suplementos (también disponible en la base de datos en línea Beilstein).

[0041] De acuerdo con otro aspecto, la presente invención provee un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual comprende:

(a) acoplar un compuesto de Fórmula II

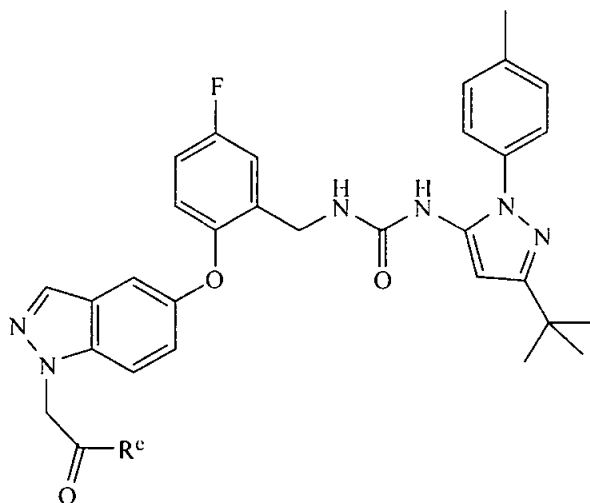


o una sal del mismo, en donde P¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, con un compuesto de Fórmula III



en el cual Z representa un grupo saliente, o el isocianato correspondiente; o

(b) reducir un compuesto de Fórmula IV



IV

en donde R^e representa un átomo de hidrógeno o un residuo de un alcohol; seguido de remover cualquier grupo protector y, si se desea, formar una sal farmacéuticamente aceptable.

[0042] Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo convenientes representados por P^1 incluyen hemicetales cíclicos, tales como tetrahidro-2H-piran-2-ilo.

[0043] El grupo saliente representado por Z puede ser, por ejemplo un grupo hidrocarbilo no sustituido o sustituido, por ejemplo un grupo haloalcoxi (C_1-C_6), tal como un 2,2,2-tricloroetoxi, un grupo alquenoiloxi tal como $CH_2=C(CH_3)O-$, or un grupo ariloxi opcionalmente sustituido, por ejemplo, con uno o más grupos seleccionados de F, Cl, Br, y NO_2 . Valores particulares para un grupo ariloxi opcionalmente sustituido incluyen fenoxi, 4-clorofenoxi, 4-bromofenoxi, 4-fluorofenoxi, 4-nitrofenoxi, y 2-nitrofenoxi. En una realización particular, Z es fenoxi.

[0044] Se ha encontrado que el compuesto IV puede ser aislado de manera ventajosa con buen rendimiento y alta pureza sin un paso de cromatografía cuando Z del compuesto III es un grupo ariloxi opcionalmente sustituido, tal como un grupo fenoxi.

[0045] El acoplamiento de un compuesto de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (III) cuando Z es un grupo fenoxi opcionalmente sustituido puede llevarse a cabo de manera conveniente a una temperatura entre 0 y $100^\circ C$, y más particularmente a temperatura ambiente. Solventes convenientes incluyen solventes apróticos tales como éteres (por ejemplo tetrahidrofurano o p-dioxano),

DMF, DMSO, o acetonitrilo. La reacción de acoplamiento se lleva a cabo de manera conveniente en presencia de una base tal como una amina terciaria (por ejemplo, trietilamina o DMA).

[0046] Los valores particulares de R^e cuando está representado por un residuo de un alcohol, incluyen grupos alcoxi(C₁-C₆), tales como etoxi.

[0047] Los compuestos de las Fórmulas (II) y (IV) son considerados novedosos y se proveen como aspectos adicionales de la invención.

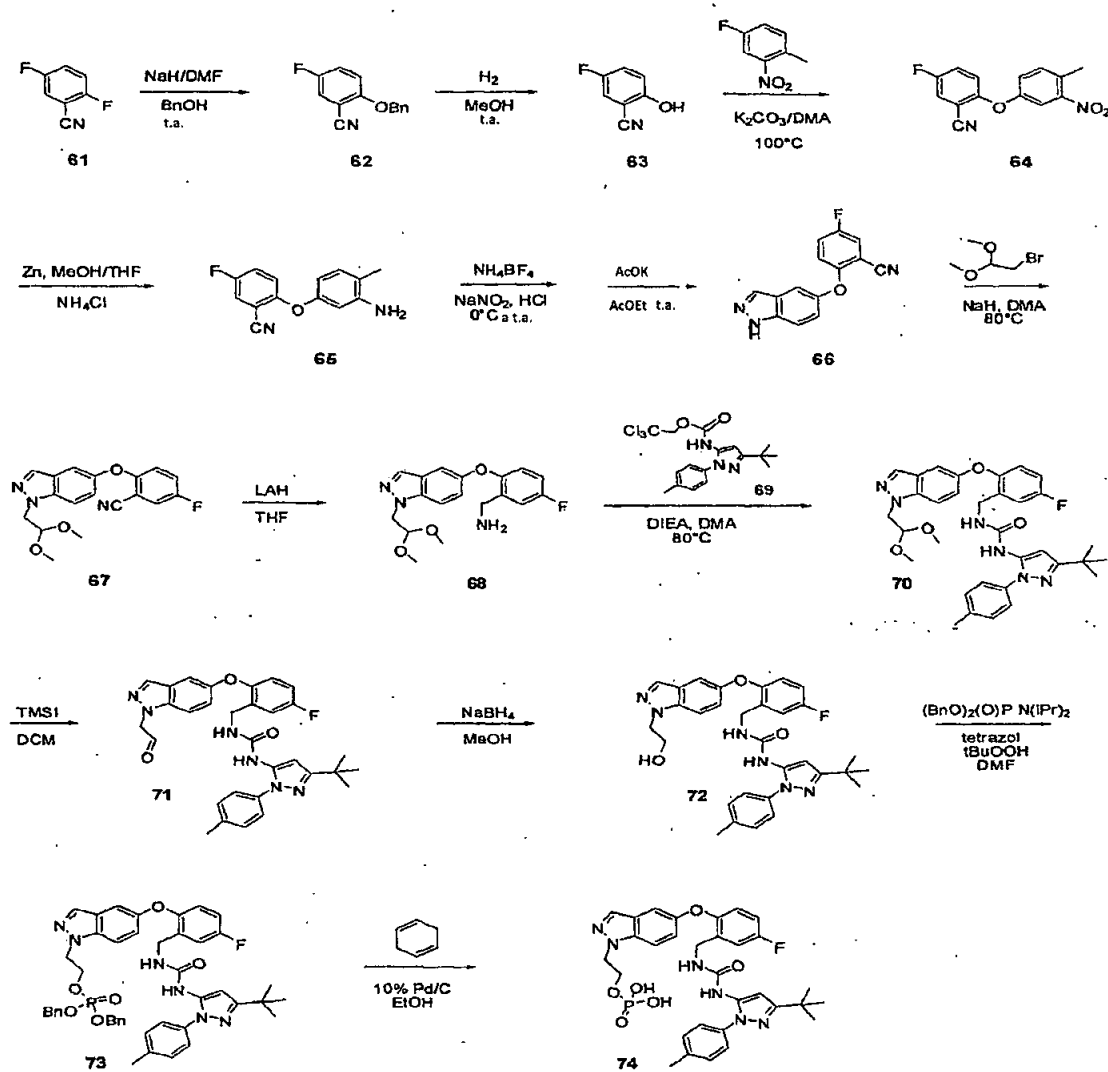
[0048] Los compuestos de Fórmula (III) cuando when Z está representado por un grupo ariloxi opcionalmente sustituido son considerados novedosos y se proveen como aspectos adicionales de la invención.

[0049] En otro aspecto, la presente invención provee un proceso para preparar un profármaco fosfato del compuesto de Fórmula I, esto es, 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual comprende fosforilar 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea, o una sal del mismo.

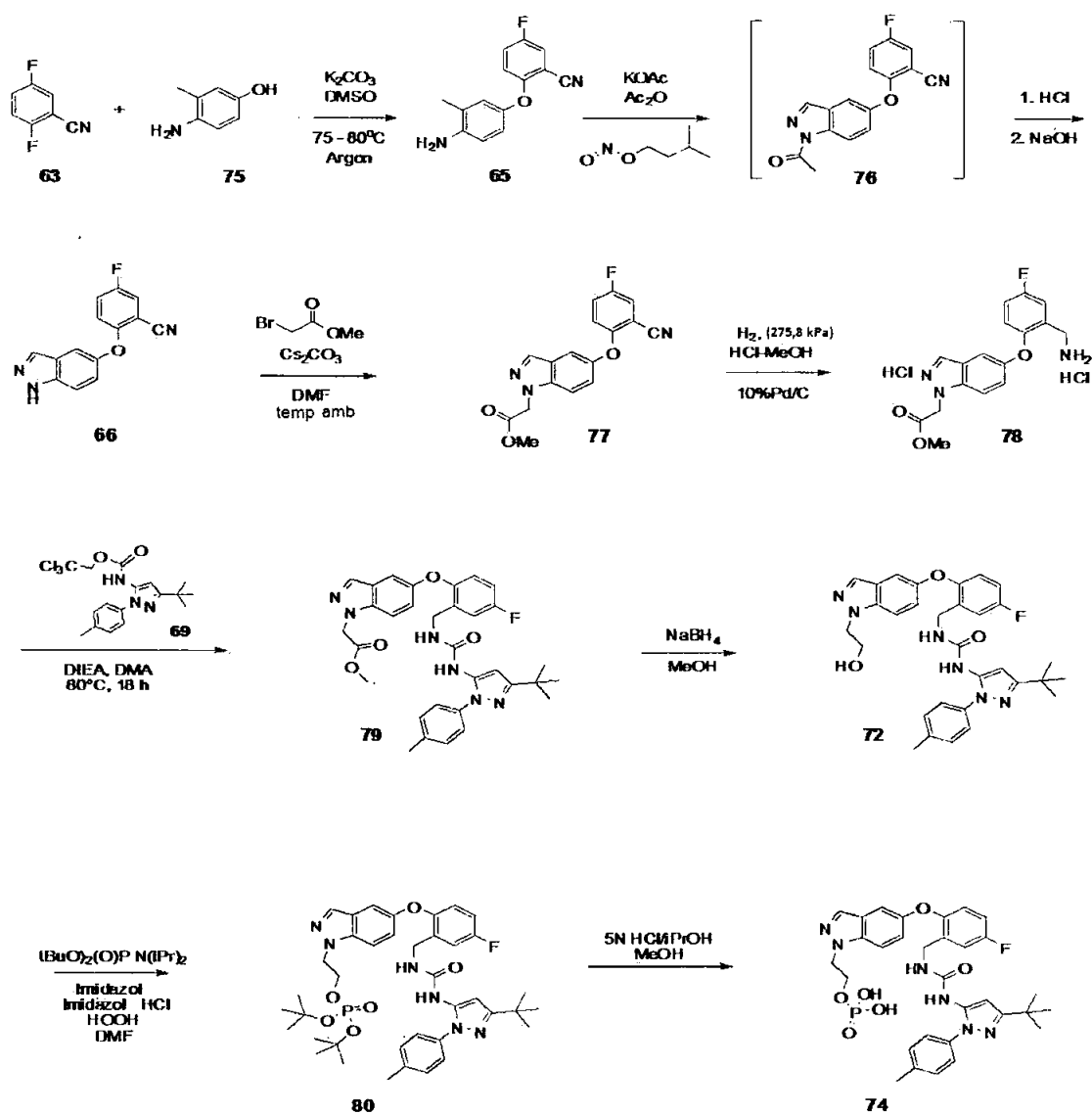
[0050] La fosforilación se lleva a cabo de manera conveniente haciendo reaccionar el alcohol con una dialquil o diaril dialquilfosfinamidita, tal como di-*tert*-butil diisopropilfosfinamidita o di-fenil diisopropilfosfinamidita, seguida de la remoción de los frupos alquilo o arilo en el producto fosfato mediante hidrólisis o hidrogenación catalítica.

[0051] Por propósitos ilustrativos, los Esquemas 1 y 2 y los Ejemplos ilustran métodos para preparar los compuestos de esta invención así como intermediarios clave. Aquellos versados en el arte apreciarán que pueden usarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos inventivos. Aunque en los Esquemas se describen, y más adelante se discuten, materiales de partida y reactivos específicos, otros materiales de partida y reactivos pueden ser sustituidos fácilmente para proveer una variedad de derivados y/o condiciones de reacción. Adicionalmente, muchos de los compuestos preparados mediante los métodos descritos a continuación pueden ser posteriormente modificados a la luz de esta

revelación usando química convencional bien conocida por aquellos versados en la materia.

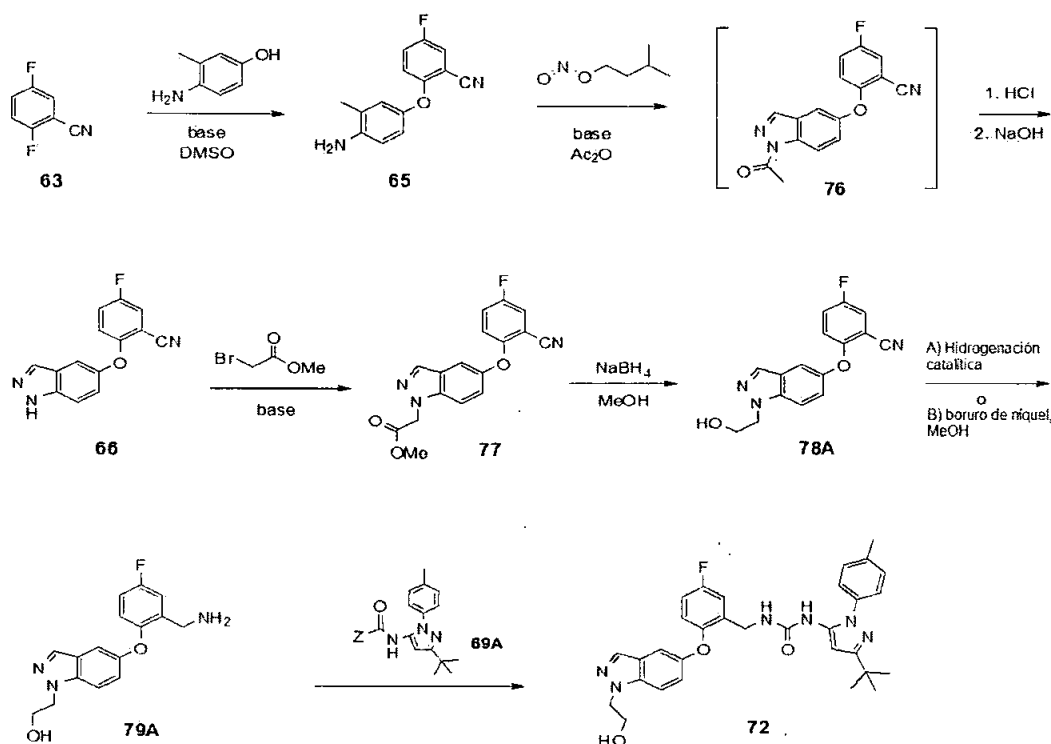


Esquema 1



Esquema 2

[0052] La reducción del nitrilo del compuesto 77 como se muestra en 2 requiere altas concentraciones de ácido (e.g., HCl o ácido acético) para minimizar la formación del dímero. Sin embargo, mayores concentraciones de ácido también pueden causar la hidrólisis de algo del éster del compuesto 78 al ácido correspondiente. El Esquema 3 ilustra un proceso mejorado para la preparación del compuesto de Fórmula I, el cual reduce la formación del dímero y las impurezas ácidas.



Esquema 3

[0053] El Esquema 3 ilustra un método para reducir el grupo éster del compuesto **77** al alcohol correspondiente de manera previa a la reducción del grupo nitrilo para proveer el compuesto **79A** libre de impurezas de ácido y con mínima formación de impurezas de dímero.

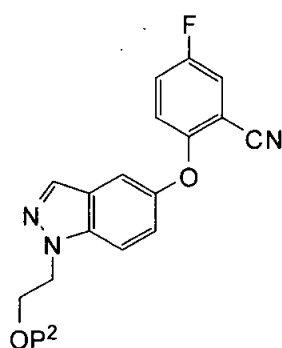
[0054] Más específicamente, el compuesto **77** puede reducirse en una manera escalonada, en la cual el grupo éster es reducido con borohidruro de sodio en un solvente adecuado para el compuesto alcohol correspondiente **78A**. El grupo nitrilo del compuesto **78A** es luego reducido bajo condiciones estándar de hidrogenación catalítica o usando boruro de níquel en un solvente orgánico adecuado para dar el compuesto metilamina correspondiente **79A**.

[0055] La ruta mostrada en el Esquema 3 ofrece diversas ventajas sobre las rutas mostradas en el Esquema 2 para la formación del compuesto de Fórmula I. Usando las rutas mostradas en el Esquema 3, la reducción del grupo nitrilo puede llevarse a cabo con mayores concentraciones de HCl, lo cual reduce de manera ventajosa la cantidad de impureza de dímero que se forma. Adicionalmente, la ruta que se muestra en el Esquema 3 evita el uso de borohidruro de sodio en el paso final, evitando de esta manera pasos adicionales de purificación para remover impurezas de boro residual del producto final. Por lo tanto, al incluir el paso de reducción de borohidruro de sodio en una etapa más temprana en la

secuencia de reacción, el boro residual puede removerse fácilmente durante los pasos intermediarios de la secuencia. Adicionalmente, el acoplamiento del compuesto amino alcohol **79A** con el compuesto **69A** puede llevarse a cabo a menores temperaturas, mejorando de esta manera la pureza del producto **72**. De manera acorde, la ruta que se muestra en el Esquema 3 permite un rendimiento mejorado para la síntesis del compuesto de Fórmula I, y en consecuencia provee una ruta sintética eficiente para la producción del compuesto de Fórmula I que es más se presta más o es más adecuada para la fabricación a gran escala.

[0056] De manera acorde, también se provee un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (II), que comprende:

[0057] (i) reducir un compuesto de Fórmula (V)



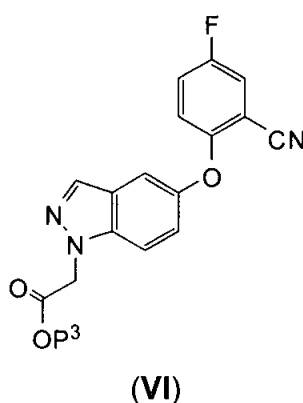
(V)

[0058] en la cual P^2 representa hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, bajo condiciones de hidrogenación catalítica o en la presencia de boruro de níquel.

[0059] Haciendo referencia al paso (i), los catalizadores de hidrogenación incluyen cualquier catalizador de paladio adecuado, tal como $Pd(OH)_2$ o paladio soportado sobre carbono. La hidrogenación ocurre bajo condiciones ácidas (tales como por la adición de un ácido, por ejemplo HCl o ácido acético) o con la adición de amoníaco. La hidrogenación catalítica puede llevarse a cabo en cualquier sistema solvente adecuado tal como un alcohol (e.g., metanol, etanol, isopropanol), éster (e.g., acetato de etilo) o éter (e.g., THF). Solventes mixtos, por ejemplo alcohol y THF, también son adecuados para el paso de hidrogenación. La presión de hidrógeno puede estar en el rango entre 25 psi (172,4 kPa) y 100 psi (689,5 kPa), por ejemplo 40 psi (275,8 kPa). La reducción se lleva a cabo de manera típica a una temperatura entre 20- 100 °C.

[0060] Haciendo referencia al paso (i), el boruro de níquel puede prepararse *in situ* a partir de una sal de un metal de transición, preferiblemente una sal de Ni(II), y borohidruro de sodio. En una realización preferida, el boruro de níquel se prepara a partir de cloruro de níquel (II) y borohidruro de sodio. La reacción se lleva a cabo de manera conveniente en un solvente adecuado tal como un alcohol (e.g., metanol, etanol, isopropanol). La reducción se lleva a cabo de manera típica a temperatura ambiente.

[0061] Un compuesto de Fórmula (V) puede prepararse reduciendo un compuesto de Fórmula (VI)



[0062] en donde P^3 es como se definió para P^2 , usando cualquier tipo de condiciones reductoras de éster (e.g., borohidruro de sodio), en un solvente adecuado tal como un alcohol (e.g., metanol, etanol, isopropanol).

[0063] Al preparar los compuestos de esta invención, puede ser necesaria la protección de funcionalidades remotas (e.g., alcoholes, aminas primarias o secundarias, etc.) de los intermediarios. La necesidad de dicha protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad remota y las condiciones de los métodos de preparación. Por ejemplo, grupos protectores de aminoácido (NH-Pg) adecuados incluyen acetilo, trifluoroacetilo, t-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBz) y 9-fluorenilmetilenoxicarbonilo (Fmoc). Grupos protectores de hidroxilo convenientes incluyen tetrahidro-2H-piran-2-ilo, bencilo, trialkilsililo, y acetal. La necesidad de dicha protección es determinada fácilmente por una persona versada en la materia. Para una descripción general de grupos protectores y su uso, ver T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991.

[0064] MÉTODOS DE TRATAMIENTO

[0065] Los compuestos de la invención pueden ser utilizados para tratar enfermedades mediadas por la modulación o regulación de las proteínas quinasas. De acuerdo con esto, otro aspecto de la invención provee métodos para tratar o prevenir las enfermedades o condiciones aquí descritas, mediante la administración a un mamífero, tal como un humano, de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de esta invención, o solvato, metabolito, o sales farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad efectiva para tratar o prevenir dicho desorden. En una realización, el método comprende administrar a un mamífero un compuesto de esta invención en una cantidad efectiva para inhibir una o más quinasas.

[0066] Una "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad de compuesto que, al ser administrada a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento, es suficiente para efectuar un tratamiento para una enfermedad mediada por la actividad de una o más proteínas quinasas, tales como la MAPK p38, y los eventos mediados por quinasa asociados tales como la producción de citoquinas. Entonces, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de esta invención o una sal, metabolito activo del mismo, es una cantidad suficiente para modular, regular o inhibir la actividad de una o más proteínas quinasas de tal manera que una condición de enfermedad que es mediada por esa actividad se reduzca o sea aliviada.

[0067] Se pretende que "tratar" signifique al menos la mitigación de una condición de enfermedad en un mamífero, tal como un humano, que está afectado, al menos en parte, por la actividad de una o más proteínas quinasas. Los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en donde el objeto es prevenir o retardar (reducir) un cambio fisiológico o desorden indeseado. Para los propósitos de esta invención, los resultados clínicos benéficos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas, disminución de la progresión de la enfermedad, estado de la enfermedad estabilizado (es decir, no empeoramiento), retraso o retardo de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no detectable. "Tratamiento" también puede significar prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos que ya tienen

la condición o desorden así como aquellos propensos a tener la condición o desorden o aquellos en los cuales debe prevenirse la condición o desorden.

[0068] La cantidad administrada de un compuesto de esta invención a un mamífero variará dependiendo de factores tales como el compuesto particular, condición de la enfermedad y su severidad, la identidad (p.ejm., peso) del mamífero en necesidad de tratamiento, pero puede sin embargo ser determinada de manera rutinaria por la persona versada en la materia.

[0069] Como se utiliza aquí, el término "mamífero" se refiere a un animal de sangre caliente que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad descrita aquí e incluye, pero no se limita a, conejillos de indias, perros, gatos, ratas, ratones, hamsters, y primates, incluyendo humanos.

[0070] En un aspecto de esta invención, los compuestos de esta invención o las sales farmacéuticas de los mismos se pueden formular en composiciones farmacéuticas para la administración a animales o humanos para tratar o prevenir una condición mediada por quinasa. El término "condición mediada por quinasa" como se utiliza aquí significa cualquier enfermedad u otra condición deletérea en la que se sabe que la p38 juega un papel, e incluye condiciones que se sabe son causadas por la sobreproducción de IL-1, TNF, IL-6 o IL-8. Tales condiciones incluyen, pero no se limitan a, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, desórdenes óseos destructivos, desórdenes proliferativos, enfermedades infecciosas, enfermedad viral, enfermedad fibrótica y enfermedades neurodegenerativas.

[0071] Las enfermedades inflamatorias que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen, pero no se limitan a, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, alergias, y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto.

[0072] Las enfermedades autoinmunes que pueden ser tratadas o prevenidas, incluyen, pero no se limitan a, glomerulonefritis, artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, tiroiditis crónica, enfermedad de Graves, gastritis autoinmune, diabetes mellitus (Tipo I) dependiente de insulina, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, dermatitis atópica, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, esclerosis múltiple,

enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, psoriasis, o enfermedad injerto vs. Huésped.

[0073] Los desórdenes óseos destructivos que pueden ser tratados o prevenidos incluyen, pero no se limitan a, osteoporosis, osteoartritis, y desorden óseo relacionado con mieloma múltiple.

[0074] Las enfermedades fibróticas que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen, pero no se limitan a, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis de hígado y riñón.

[0075] Las enfermedades proliferativas que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen, pero no se limitan a, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi, síndrome mielodisplásico, mieloma múltiple, astrocitoma, cáncer óseo, cáncer cerebral, cáncer de seno, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, glioma, glioblastoma, cáncer multiforme de cabeza y cuello, cáncer hematológico, desórdenes de hematopoyesis, enfermedades intersticiales del pulmón, sarcoma de Kaposi, leucemia linfocítica, melanoma, leucemia mieloide, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de ovario, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer de piel, cáncer de pulmón de células pequeñas, y cáncer de estómago. Otros pacientes que pueden ser tratados incluyen aquellos que se sometieron a trasplante de médula ósea.

[0076] Las enfermedades infecciosas que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen, pero no se limitan a, sepsis, choque séptico, y shigelosis.

[0077] Las enfermedades virales que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen, pero no se limitan a, infección por hepatitis aguda (incluyendo hepatitis A, hepatitis B y hepatitis C), infección por VIH, y retinitis por CMV.

[0078] Las condiciones o enfermedades degenerativas que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de esta invención, incluyen, pero no se limitan a, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral y otras enfermedades neurodegenerativas.

[0079] El término "condiciones mediadas por quinasa" también incluye isquemia/reperfusión en apoplejía, ataques cardíacos, isquemia del miocardio, hipoxia de órganos, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, y agregación de plaquetas inducida por trombina.

[0080] Adicionalmente, los inhibidores de quinasa de esta invención también son útiles para inhibir la expresión de proteínas pro-inflamatorias inducibles tales como prostaglandina endoperoxido sintetasa-2 (PGHS-2), a la que también se hace referencia como ciclooxigenasa-2 (COX-2). Por lo tanto, otras "condiciones mediadas por quinasa" incluyen, pero no se limitan a, edema, analgesia, fiebre y dolor, tal como dolor neuromuscular, dolor de cabeza, dolor causado por cáncer, dolor dental y dolor por artritis.

[0081] Las condiciones y enfermedades que pueden ser tratadas o prevenidas por los inhibidores de quinasa de esta invención también se pueden agrupar convenientemente mediante las citoquinas (e.g. IL-1, TNF, IL-6, IL-8) que se cree son responsables de la enfermedad.

[0082] Por consiguiente, una enfermedad o condición mediada por la IL-1 incluye artritis reumatoidea, osteoartritis, apoplejía, endotoxemia y/o síndrome de choque tóxico, reacción inflamatoria inducida por endotoxina, enfermedad inflamatoria del intestino, tuberculosis, aterosclerosis, degeneración muscular, caquexia, artritis psoriática, síndrome de Reiter, gota, artritis traumática, artritis por rubeola, sinovitis aguda, diabetes, enfermedad de las células pancreáticas y enfermedad de Alzheimer.

[0083] Las enfermedades o condiciones mediadas por el TNF incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoidea, espondilitis reumatoide, osteoartritis, artritis gotosa y otras condiciones artríticas, sepsis, choque séptico, choque endotóxico, sepsis gram negativa, síndrome de choque tóxico, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto, malaria cerebral, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, enfermedades de resorción ósea, lesión por reperfusión, reacción injerto vs. Huésped, rechazos de aloinjertos, fiebre y mialgias debidas a infección, caquexia secundaria debida a infección, SIDA, ARC o malignidad, formación de queloides, formación de tejido cicatrizante, enfermedad de Crohn, colitis o piresis ulcerativa. Las enfermedades mediadas por el TNF también incluyen infecciones virales, tales como VIH, CMV, influenza y

herpes; e infecciones virales veterinarias, tales como infecciones por lentivirus incluyendo, pero sin limitarse a virus de anemia infecciosa equina, virus de artritis caprina, virus visna o virus maedi; o infecciones por retrovirus, incluyendo el virus de inmunodeficiencia felina, virus de inmunodeficiencia bovina, o virus de inmunodeficiencia canina.

[0084] Las enfermedades o condiciones mediadas por la IL-8 incluyen, pero no se limitan a, enfermedades caracterizadas por infiltración masiva de neutrófilos, tales como psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, asma, lesión por reperfusión cardíaca y renal, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto, trombosis y glomerulonefritis.

[0085] Adicionalmente, los compuestos de esta invención pueden ser utilizados tópicamente para tratar o prevenir condiciones causadas o exacerbadas por la IL-1 o el TNF. Dichas condiciones incluyen, pero no se limitan a, articulaciones inflamadas, eccema, soriasis, condiciones inflamatorias de la piel tales como quemaduras solares, condiciones inflamatorias de los ojos tales como conjuntivitis, piresis, dolor y otras condiciones asociadas con la inflamación.

[0086] Aunque los compuestos de esta invención son valiosos principalmente como agentes terapéuticos para uso en animales de sangre caliente (incluyendo humanos), también son útiles siempre que se requiera inhibir los efectos de las citoquinas. Por consiguiente, son útiles como estándares farmacológicos para uso en el desarrollo de nuevas pruebas biológicas y en la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos.

[0087] El tamaño de la dosis para propósitos terapéuticos o profilácticos de un compuesto de esta invención naturalmente variará de acuerdo con la naturaleza y severidad de las condiciones, la edad y sexo del animal o paciente y la vía de administración de acuerdo con principios bien conocidos de la medicina.

[0088] Otro aspecto de esta invención provee un compuesto de esta invención para su uso como un medicamento en el tratamiento de las enfermedades o condiciones aquí descritas en un mamífero, por ejemplo, un humano, que sufre de dicha enfermedad o condición. También se provee el uso de un compuesto de esta invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades y condiciones aquí descritas en un animal de

sangre caliente, tal como un mamífero, por ejemplo un humano, que sufre de dicho desorden.

TERAPIA DE COMBINACIÓN

[0089] Los compuestos de esta invención pueden ser usados en combinación con otros fármacos y terapias usadas en el tratamiento de estados de enfermedad que se beneficiarían de la inhibición de las quinasas y las citoquinas asociadas, tales como IL-1, TNF, IL-6 o IL-8. La dosis del segundo fármaco puede ser seleccionada de manera apropiada con base en una dosis empleada clínicamente. La proporción del compuesto de esta invención y el segundo fármaco puede ser determinada de manera apropiada de acuerdo con el sujeto al que se le administra, la vía de administración, la enfermedad objetivo, la condición clínica, la combinación, y otros factores. En casos donde el sujeto al que se le administra es un humano, por ejemplo, puede usarse el segundo fármaco en una cantidad de 0.01 a 100 partes en peso por parte en peso del compuesto de esta invención.

[0090] El segundo fármaco de la formulación de la combinación farmacéutica o régimen de dosis tiene, por ejemplo, actividades complementarias al compuesto de esta invención de tal manera que no se afectan entre sí de manera adversa. Dichos fármacos están presentes de manera adecuada en combinación en cantidades que son efectivas para el propósito buscado. De manera acorde, otro aspecto de esta invención provee una composición que comprende un compuesto de esta invención en combinación con un segundo fármaco, tal como se describe aquí.

[0091] El compuesto de esta invención y el(los) fármaco(s) adicionales farmacéuticamente activo(s) pueden ser administrados juntos en una composición farmacéutica unitaria o de manera separada y, cuando se administran de manera separada, esto puede ocurrir de manera simultánea o secuencial en cualquier orden. Dicha administración secuencial puede ser cercana en el tiempo o remota en el tiempo. Las cantidades del compuesto de esta invención y el(los) segundo(s) fármaco(s) y los tiempos relativos de administración se seleccionarán para lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

[0092] La terapia de combinación puede proveer "sinergia" y probar ser "sinérgica", i.e., el efecto logrado cuando los ingredientes activos son usados en

conjunto es mayor que la suma de los efectos que resultan al usar los compuestos separadamente. Puede alcanzarse un efecto sinérgico cuando un compuesto de esta invención y el segundo fármaco son: (1) co-formulados y administrados o entregados de manera simultánea en una formulación combinada de dosis unitaria; (2) entregados en alternancia o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) mediante algún otro régimen. Cuando se entregan en una terapia de alternancia, puede lograrse un efecto sinérgico cuando un compuesto de esta invención y el segundo fármaco se administran o entregan de manera secuencial, e.g. mediante diferentes inyecciones en jeringas separadas. Por ejemplo, durante la terapia de alternancia, se puede administrar de manera secuencial una dosis efectiva de cada ingrediente activo, i.e., en serie, mientras que en la terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más ingredientes activos son administradas en conjunto.

[0093] Por ejemplo, en virtud de su habilidad para inhibir las citoquinas, los compuestos de esta invención son valiosos para el tratamiento de ciertas enfermedades inflamatorias y no inflamatorias que en la actualidad son tratadas con un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo (AINES) inhibidor de ciclooxigenasa tal como indometacina, ketorolaco, ácido acetil salicílico, ibuprofeno, sulindac, tolmetina y piroxicam. La co-administración de un compuesto de esta invención con un AINES puede resultar en una reducción de la cantidad necesaria del último agente para producir un efecto terapéutico, y por consiguiente, se reduce la probabilidad de efectos colaterales adversos del AINES, por ejemplo, se reducen los efectos gastrointestinales. Por consiguiente, de acuerdo con una característica adicional de la invención, se provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de esta invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en conjunto o en mezcla con un agente anti-inflamatorio no esteroideo inhibidor de ciclooxigenasa, y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0094] Los compuestos de esta invención también pueden ser usados en el tratamiento de condiciones tales como artritis reumatoidea en combinación con agentes anti-artríticos tales como oro, metotrexato, esteroides y penicilamina, y en condiciones tales como osteoartritis en combinación con esteroides.

[0095] Los compuestos de esta invención también pueden ser usados en el tratamiento de enfermedades degenerativas, por ejemplo osteoartritis, en

combinación con agentes condroprotectores, anti-degenerativos y/o reparadores tales como Diacereina, formulaciones de ácido hialurónico tales como Hyalan, Rumalon, Arteparon y sales de glucosamina tales como Antril.

[0096] Los compuestos de esta invención pueden también ser usados en el tratamiento del asma en combinación con agentes anti-asmáticos tales como broncodilatadores y antagonistas de leucotrienos.

ADMINISTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

[0097] Los compuestos de la invención pueden ser administrados mediante cualquier ruta apropiada para la condición a tratar. Rutas adecuadas incluyen oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intradérmica, intratecal y epidural), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Se apreciará que la ruta utilizada puede variar con, por ejemplo, la condición del sujeto. Cuando el compuesto es administrado oralmente, puede ser formulado como una píldora, cápsula, tableta, etc. con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Cuando el compuesto es administrado parenteralmente, puede ser formulado con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable y en una forma inyectable de dosis unitaria, como se detalla más adelante.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

[0098] Para utilizar un compuesto de esta invención para el tratamiento terapéutico (incluyendo tratamiento profiláctico) de mamíferos incluyendo humanos, éste se formula normalmente de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar como una composición farmacéutica. De acuerdo con este aspecto de la invención, se provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de esta invención en asociación con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0099] Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan, dosifican y administran de una manera, i.e., cantidades, concentraciones, horarios, curso, vehículos y vía de administración, consistente con la buena práctica médica. Los factores para considerar en este contexto incluyen el desorden particular que está siendo tratado, el mamífero particular que está siendo tratado, la condición clínica del paciente individual, la causa del desorden,

el sitio de entrega del agente, el método de administración, el horario de administración, y otros factores conocidos por los médicos. La cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto a administrar estará gobernada por dichas consideraciones, y es la mínima cantidad necesaria para prevenir, mejorar, o tratar el desorden. El compuesto de esta invención se formula de manera típica en formas de dosis farmacéutica para proveer una dosis fácilmente controlable del fármaco y para permitir el cumplimiento del paciente con el régimen prescrito.

[00100] La composición para uso aquí es preferiblemente estéril. En particular, las formulaciones a ser usadas para administración *in vivo* deben ser estériles. Dicha esterilización se logra fácilmente, por ejemplo, mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. El compuesto puede ser por lo general como una composición sólida, una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

[00101] Las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de esta invención se pueden preparar mediante varias rutas y tipos de administración. Por ejemplo, un compuesto de esta invención que tiene el grado de pureza deseado puede opcionalmente mezclarse con diluyentes, portadores, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences (1980) 16th edition, Osol, A. Ed.), en la forma de una formulación liofilizada, un polvo triturado, o una solución acuosa. La formulación se puede realizar mezclando a temperatura ambiente al pH apropiado, y en el grado deseado de pureza deseado, con portadores fisiológicamente aceptables, i.e., portadores que no son tóxicos para los sujetos en las dosis y concentraciones empleadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y la concentración del compuesto, pero puede variar por ejemplo desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 8. La formulación en un amortiguador de acetato a pH 5 es una realización apropiada. Las formulaciones pueden prepararse usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Por ejemplo, el fármaco a granel (i.e., el compuesto de esta invención o la forma estabilizada del compuesto (e.g., el complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de acomplexamiento conocido) se disuelve en un solvente adecuado en presencia de uno o más excipientes.

[00102] El portador, diluyente o excipiente particular usado, dependerá de los medios y el propósito para los cuales se aplica el compuesto de esta invención. Los solventes generalmente se seleccionan con base en solventes reconocidos

por las personas versadas en la materia como seguros (GRAS) para ser administrados a un mamífero. En general, los solventes seguros son solventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros solventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Solventes acuosos apropiados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (p.ejm., PEG 400, PEG 300), etc. y mezclas de los mismos. Los diluyentes, portadores, excipientes y estabilizantes aceptables no son tóxicos para los sujetos en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen amortiguadores tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; preservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol; alcohol butílico o bencilico; alquil parabenos tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (e.g., complejos proteína-Zn); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Las formulaciones pueden incluir además uno o más agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsificantes, agentes de suspensión, preservantes, antioxidantes, agentes opacificantes, deslizantes, ayudantes de procesamiento, colorantes, endulzantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos para proveer una presentación elegante del fármaco (i.e., un compuesto de esta invención o composición farmacéutica del mismo) o ayuda en la fabricación del producto farmacéutico (i.e., medicamento). Los ingredientes farmacéuticos activos pueden también atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de gelatina o hidroximetilcelulosa y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas coloidales de entrega de fármacos (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nano-partículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se revelan en Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Un "liposoma" es una vesícula pequeña compuesta de varios tipos de lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivo, que

es útil para la entrega de un fármaco a un mamífero. Los componentes del liposoma se organizan comúnmente en una formación de bicapa, similar a la organización de los lípidos de las membranas biológicas.

[00103] Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida de los compuestos de esta invención. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semi-permeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen un compuesto de esta invención, cuyas matrices están en la forma de artículos con forma, por ejemplo, películas, o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietil-metacrilato), o poli(vinilalcohol)), poliactidas (Patente U.S. No. 3,773,919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinilo no degradable, copolímeros degradables de ácido glicólico- ácido láctico tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero ácido glicólico- ácido láctico y acetato de leuprolide) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

[00104] Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede ser formulada de acuerdo con el arte conocido utilizando aquellos agentes humectantes o dispersantes adecuados que han sido mencionados anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no toxico parenteralmente aceptable, tal como una solución en 1,3-butanodiol o preparada como un polvo liofilizado. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están: agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente, de manera convencional, pueden emplearse aceites no volátiles estériles como solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite no volátil blando incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, en la preparación de inyectables se pueden usar ácidos grasos tales como ácido oleico.

[00105] Las composiciones farmacéuticas de esta invención que son adecuadas para la administración parenteral incluyen solución de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener anti-oxidantes, amortiguadores, bacteriostatos, y solutos que hacen isotónica la formulación con

la sangre del sujeto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

[00106] Las composiciones de la invención también se pueden formular en una forma adecuada para uso oral (por ejemplo como tabletas, comprimidos, capsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos dispersables o granulos, jarabes o elixires) para uso tópico (por ejemplo como cremas, ungüentos, geles, o soluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para la administración mediante inhalación (por ejemplo como un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para la administración mediante insuflación (por ejemplo como un polvo finamente dividido)

[00107] Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para una formulación de tableta incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes tales como lactosa, carbonato de sodio, fosfato de calcio o carbonato de calcio, agentes granulantes y desintegrantes tales como almidón de maíz o ácido algénico; agentes aglutinantes tales como almidón, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; agentes preservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o propilo, y anti-oxidantes, tales como ácido ascórbico. Las formulaciones de tableta se pueden estar o no recubiertas ya sea para modificar su desintegración y la subsecuente absorción del ingrediente activo dentro del tracto gastrointestinal, o para mejorar su estabilidad y/o apariencia, en cualquier caso, utilizando agentes de recubrimiento convencionales y procesos bien conocidos en el arte.

[00108] Las composiciones para uso oral se pueden formular en forma de cápsulas duras de gelatina en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas blandas de gelatina en las cuales el ingrediente activo se mezcla con agua o un aceite tal como aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

[00109] Las suspensiones acuosas generalmente contienen el ingrediente activo en forma de polvo fino junto con uno o más agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinil-pirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; agentes humectantes o dispersantes tales como lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileño con ácidos grasos (por ejemplo estearato de polioxetileno),

o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitan. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más preservantes (tales como p-hidroxibenzoato de etilo o propilo), anti-oxidantes (tales como ácido ascórbico), agentes colorantes, agentes saborizantes, y/o agentes endulzantes (tales como sacarosa, sacarina o aspartame).

[00110] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal (tal como aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de ajonjolí o aceite de coco) o en un aceite mineral (tal como parafina líquida). Las suspensiones oleosas también pueden contener un agente espesante tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden adicionarse agentes endulzantes tales como aquellos planteados anteriormente, y agentes saborizantes para proveer una preparación oral sávida. Estas composiciones pueden preservarse mediante la adición de un anti-oxidante tal como ácido ascórbico.

[00111] Los polvos dispersables y los gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua contienen generalmente el ingrediente activo junto con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más preservantes. Agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados están ejemplificados por aquellos anteriormente mencionados. También pueden estar presentes excipientes adicionales tales como agentes endulzantes, saborizantes y colorantes.

[00112] Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en la forma de emulsiones aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de arachis, o un aceite mineral, tal como por ejemplo parafina líquida o una mezcla de cualquiera de éstos. Agentes emulsificantes adecuados pueden ser, por ejemplo, gomas de origen natural, tales como goma acacia o goma tragacanto, fosfátidos de origen natural tales como grano de soya, lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo monooleato de sorbitan) y productos de

condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno tales como monooleato de polioxietileno sorbitan. Las emulsiones también pueden contener agentes endulzantes, saborizantes y preservantes.

[00113] Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes endulzantes tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol, aspartame o sacarosa, y pueden contener también un agente emoliente, preservante, saborizante y/o colorante.

[00114] Las formulaciones de supositorio se pueden preparar mezclando el ingrediente activo con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y que por lo tanto se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles. Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como formulaciones de óvulos, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o aerosoles que contienen además del ingrediente activo, dichos portadores conocidos en el arte como apropiados.

[00115] Las formulaciones tópicas tales como cremas, ungüentos, geles y soluciones o suspensiones acuosas u oleosas, pueden obtenerse generalmente formulando un ingrediente activo con un vehículo o diluyente convencional, tópicamente aceptable usando procesos convencionales bien conocidos en el arte.

[00116] Las composiciones para administración transdérmica pueden estar en la forma de aquellos parches de piel transdérmicos que son bien conocidos para aquellos de habilidad ordinaria en el arte.

[00117] Las composiciones para administración mediante insuflación pueden estar en la forma de un polvo finamente dividido que contiene partículas de diámetro promedio de, por ejemplo, 30 μm o mucho menos, comprendiendo el polvo mismo ya sea el ingrediente activo solo o diluido con uno o más portadores fisiológicamente aceptables como lactosa. Posteriormente, el polvo para insuflación es convenientemente retenido en una cápsula que contiene, por ejemplo, 1 a 50 mg de ingrediente activo para uso con un dispositivo turbo-inhalador, tal como el que se utiliza para la insuflación del conocido agente cromoglicato de sodio.

[00118] Las composiciones para administración mediante inhalación pueden estar en la forma de un aerosol presurizado convencional diseñado para dispensar el ingrediente activo ya sea como un aerosol que contiene sólido finamente dividido o gotas líquidas. Pueden usarse propulsores de aerosol convencionales tales como hidrocarburos o hidrocarburos fluorados volátiles y el dispositivo de aerosol está convenientemente diseñado para dispensar una cantidad medida del ingrediente activo.

[00119] La composición farmacéutica (o formulación) para aplicación puede empacarse en una variedad de formas dependiendo del método utilizado para administrar el fármaco. Por ejemplo, un artículo para distribución puede incluir un contenedor que tenga allí depositada la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los contenedores adecuados son bien conocidos para aquellos versados en la materia e incluyen materiales tales como botellas (plástico y vidrio), sobres, ampollas, bolsas plásticas, cilindros de metal y similares. El contenedor también puede incluir un ensamble a prueba de manipulación para prevenir el acceso indiscreto a los contenidos del paquete. Adicionalmente, el contenedor tiene una etiqueta que describe los contenidos del contenedor. La etiqueta también puede incluir advertencias adecuadas. Las formulaciones también se pueden empacar en contenedores de dosis unitaria o multi- dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se puede almacenar en una condición de secado en congelación (lío filizado) que requiere solo la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo agua, para inyección inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se preparan a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosis unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una sub-dosis unitaria diaria, como se indicó aquí anteriormente, o una fracción apropiada de las mismas, del ingrediente activo.

[00120] La invención provee adicionalmente composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se definió anteriormente, junto con un portador veterinario. Los portadores veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que de otra manera son inertes o aceptables en el arte veterinario y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden ser administradas vía parenteral, oral o mediante cualquier otra vía deseada.

[00121] La cantidad de un compuesto de esta invención que se combina con uno o más excipientes para producir una forma de dosis única, necesariamente variará dependiendo del sujeto tratado, la severidad del desorden o condición, la tasa de administración, la disposición del compuesto y la discreción del médico tratante. En una realización, se administra una cantidad adecuada de un compuesto de esta invención a un mamífero en necesidad del mismo. La administración en una realización ocurre en una cantidad entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 60mg/kg de peso corporal por día. En otra realización, la administración ocurre en una cantidad entre 0.5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal por día. En algunos casos, los niveles de dosis por debajo del límite inferior del rango mencionado pueden ser más que adecuadas, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis aún mayores sin causar ningún efecto colateral dañino, siempre y cuando las dosis mayores se dividan primero en varias dosis pequeñas para la administración a lo largo del día. Para información adicional acerca de rutas de administración y regímenes de dosis, ver Capítulo 25.3 en Volumen 5 de *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Jefe de la Mesa Editorial), Pergamon Press 1990, que se incorpora aquí específicamente como referencia.

ARTICULOS DE MANUFACTURA

[00122] En otra realización de la invención, se provee un artículo de manufactura, o "kit" que contiene materiales útiles para el tratamiento de los desórdenes anteriormente descritos. En una realización, el kit comprende un contenedor que comprende un compuesto de esta invención. Contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, empaques de blíster, etc. El contenedor puede estar formado a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El contenedor puede contener un compuesto de esta invención o una formulación del mismo que es efectiva para tratar la condición y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica).

[00123] El kit puede comprender además una etiqueta o inserto del paquete dentro o asociado con el contenedor. El término "inserto del paquete" se usa para referirse a instrucciones tradicionalmente incluidas en paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información acerca de las indicaciones,

uso, dosis, administración, contraindicaciones y/o advertencias con respecto al uso de dichos productos terapéuticos. En una realización, la etiqueta o inserto del paquete indica que la composición que comprende un compuesto de esta invención se puede usar para tratar una enfermedad o desorden mediados por quinasas. La etiqueta o inserto del paquete también puede indicar que la composición se puede utilizar para tratar otros desórdenes.

[00124] En ciertas realizaciones, los kits son adecuados para la entrega de formas sólidas orales de un compuesto de esta invención, tales como tabletas o cápsulas. Tal kit incluye preferiblemente un número de dosis unitarias. Tales kits pueden incluir una tarjeta que tiene las dosis orientadas en el orden del uso que se pretende. Un ejemplo de dicho kit es un "empaque de blíster". Los empaques de blíster son bien conocidos en la industria de empaque y son ampliamente utilizados para empacar farmacéuticamente formas farmacéuticas de dosis unitaria. Si se desea, se puede proveer una ayuda para la memoria, por ejemplo en la forma de números, letras, u otras marcas o con un inserto de calendario, designando los días en el cronograma de tratamiento en el cual pueden administrarse las dosis.

[00125] De acuerdo con otra realización, un kit puede comprender (a) un primer contenedor con un compuesto de esta invención allí contenido; y (b) un segundo contenedor con una segunda formulación farmacéutica allí contenida, en donde la segunda formulación farmacéutica comprende un segundo compuesto útil para tratar una enfermedad o desorden mediados por quinasas. Alternativamente, o adicionalmente el kit puede comprender además un tercer contenedor que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), amortiguador de fosfato salino, solución de Ringer y solución de dextrosa. El kit puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

[00126] El kit puede comprender adicionalmente indicaciones para la administración del compuesto de esta invención y, si está presente, la segunda formulación farmacéutica. Por ejemplo, si el kit comprende una primera composición que comprende un compuesto de esta invención y una segunda formulación farmacéutica, el kit puede además comprender indicaciones para la

administración simultánea, secuencial o separada de la primera y la segunda composición farmacéutica a un paciente en necesidad del mismo.

[00127] En ciertas realizaciones en donde el kit comprende una composición de esta invención y una segunda formulación farmacéutica, el kit puede comprender un contenedor que contenga las composiciones separadas tales como una botella dividida o un paquete de lámina dividido, sin embargo, las composiciones separadas también pueden estar contenidas dentro de un contenedor único, sin división. En ciertas realizaciones, el kit comprende indicaciones para la administración de los componentes separados. La forma del kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados son administrados preferiblemente en diferentes formas de dosis (e.g., oral y parenteral), son administrados en diferentes intervalos de dosis, o cuando la titulación de los componentes individuales de la combinación es deseada por el médico tratante.

ACTIVIDAD BIOLOGICA

Inhibición de la MAPK p38

[00128] Se puede evaluar la actividad de los compuestos de esta invención para la inhibición de la MAPK p38 *in vitro*, *in vivo*, o en una línea celular. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos que determinan la inhibición de la actividad quinasa o de la actividad ATPasa de la MAPK p38 activada. Los ensayos *in vitro* alternos cuantifican la habilidad del inhibidor para enlazarse a la MAPK p38 y pueden medirse ya sea mediante radiomarcación del inhibidor antes del enlace, aislamiento del complejo inhibidor/MAPK p38 y determinando la cantidad de radiomarcador enlazado, o realizando un experimento de competencia en donde los nuevos inhibidores se incuban con MAPK p38 enlazada a radioligandos conocidos. Estos y otros útiles ensayos *in vitro* y en cultivo celular son bien conocidos para aquellos versados en la materia.

[00129] Los ensayos en cultivo celular del efecto inhibidor de los compuestos de esta invención se pueden utilizar para determinar las cantidades de TNF- α , IL-1, IL-6 o IL-8 producidos en sangre entera o en fracciones celulares de la misma en células tratadas con el inhibidor en comparación con células tratadas con controles negativos. El nivel de estas citoquinas puede determinarse mediante el uso de ensayos de ELISA disponibles comercialmente o como se describe en la sección de Ejemplos Biológicos a continuación.

EJEMPLOS

[00130] Con el fin de ilustrar la invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse que estos ejemplos no limitan la invención y solo pretenden sugerir un método para practicar la invención.

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

[00131] Se demostró la actividad biológica de los compuestos de la invención mediante los siguientes ensayos *in vitro*. Los compuestos usados en los Ejemplos C-M fueron: Compuesto 72: 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea (Ejemplos 1 y 3); y Compuesto 74: 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato (Ejemplos 2 y 4).

Ejemplo A

Evaluación bioquímica de la p38

[00132] Se evaluó la actividad de la p38 a temperatura ambiente en una reacción de 100 μ L que contenía enzima p38 α activada 5 nM y ATF-2 (proteína de fusión del Factor activante de Transcripción 2) 1 μ M como el sustrato en HEPES 25 mM (pH 7.4), Vanadato 100 μ M, DTT 1 mM, MgCl₂ 10 mM y [γ -³³P]-ATP 10 μ M (~0.1 μ Ci P³³/reacción). La reacción se detuvo después de 30-40 minutos adicionando TCA 25%, dejando en reposo durante 5 minutos, y posteriormente transfiriéndola directamente a una placa de filtros de membrana GF-B. El filtro se lavó dos veces durante 30 segundos con ácido fosfórico 0.5% usando un colector automatizado Tomtec Mach III. Después del lavado, se continuó haciendo vacío durante 30 segundos para secar el filtro. Se adicionaron aproximadamente 30 μ L de centelleante por pozo a la placa de filtros y posteriormente se leyó en un Contador de Centelleo Líquido (Packard TopCount HTS).

Ejemplo B

Evaluación de PBMC

[00133] Se evaluó la habilidad de los compuestos de esta invención para inhibir la producción de TNF- α usando células mononucleares de sangre periférica ("PBMC") las cuales sintetizan y secretan TNF- α al ser estimuladas con lipopolisacárido.

[00134] Las soluciones de prueba del compuesto se prepararon haciendo diluciones seriales de 5 veces en DMSO, cuyas diluciones fueron diluidas

posteriormente a stocks de 5x diluyendo con MEM, suero bovino fetal ("FBS") inactivado por calor 2%, HEPES 20 mM, L-glutamina 2 mM, y penicilina/estreptomicina 1%.

[00135] Las PBMC se aislaron a partir de sangre humana como sigue. Se recolectaron muestras de sangre entera a partir de voluntarios humanos en Vacutainer™ CPT de Becton Dickinson. Los tubos se mezclaron y se centrifugaron a temperatura ambiente (18 – 25 °C) en un rotor horizontal durante un mínimo de 15 minutos a 1500–1800 RCF (fuerza centrífuga relativa). Para cada donante, se recogieron en un único tubo las capas de recubrimiento amortiguadas y se lavaron dos veces con amortiguador de fosfato salino ("PBS"). El sedimento de células se resuspendió en MEM, suero bovino fetal ("FBS") inactivado por calor 2%, HEPES 20 mM, L-glutamina 2 mM, y penicilina/estreptomicina 1%. El número total de células se determinó usando un hemocitómetro y la suspensión de células se ajustó a 2×10^6 células/mL.

[00136] A cada pozo de una placa de cultivo de células de 96 pozos, se adicionó 0.1 mL de la suspensión de células. Se adicionó una solución del compuesto de prueba (30 µL), y las células se incubaron en un incubador de 37 °C/5% CO₂ durante hora, y posteriormente se adicionaron 20 µL de lipopolisacárido 7.5 ng/mL (LPS *E. Coli* K-235) a cada pozo, y las células se llevaron de nuevo al incubador de 37 °C/5% CO₂ durante 16-20 horas. Las células se centrifugaron durante 15 minutos a 1100 RCF. Se transfirieron aproximadamente 0.12 mL del sobrenadante a una placa de polipropileno de 96 pozos limpia. Las muestras fueron evaluadas inmediatamente o bien, se almacenaron a -80°C hasta tener lista la evaluación. Se determinaron los niveles de TNF-α en cada muestra usando un ensayo ELISA de TNF-α humano tal como aquel descrito a continuación.

[00137] Se determinaron los niveles de TNF-α usando el siguiente ensayo. Las placas recubiertas con anticuerpo a TNF-alfa se prepararon adicionando 150 µL de IgG monoclonal de ratón purificada anti-TNF-α (2 µg/mL) en amortiguador de Carbonato-Bicarbonato (Paquete Amortiguador Carbonato-Bicarbonato BupH™) a los pozos de una placa de 96 pozos Immulon 4 (Placa de ELISA de Fondo Plano Immulon 4; Dynex, número de catálogo 011-010-3855) e incubando durante toda la noche a 2 – 8 °C. Se removió la solución de recubrimiento y se adicionaron 200 µL de amortiguador de bloqueo (HEPES pH 7.4 20 mM, NaCl 150

mM, BSA 2%) y las placas se almacenaron a 2 – 8 °C hasta que estuvieran listas para ser usadas. Se preparó una curva de estándar de diez puntos de TNF- α humano recombinante mediante una dilución serial 1:2 en el diluyente de la muestra (HEPES 20 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, MgCl₂ 2 mM, BSA 1%) con una concentración superior de 6000 pg/mL.

[00138] La solución de bloqueo se removió de las placas de ELISA de TNF- α lavando cinco veces con 300 μ L de "amortiguador de lavado" (HEPES 20 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, MgCl₂ 2 mM, Tween-20 0.02%). Se adicionaron 50 μ L del diluyente de la muestra a todos los pozos, y posteriormente se adicionaron 50 μ L de una solución de la curva estándar de TNF- α o sobrenadante del compuesto de prueba a todos los pozos. La placa se incubó a temperatura ambiente durante una hora con agitación (300 rpm). La placa se lavó cinco veces con 300 μ L de amortiguador de lavado. Se adicionaron 100 μ L de TNF- α de cabra anti-humano, biotinilado 0.2 μ g/mL en "diluyente de anticuerpo" (HEPES 20 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, MgCl₂ 2 mM, BSA 1 %, Tween-20 0.02%) por pozo, y la placa se incubó a temperatura ambiente durante una hora con agitación (300 rpm). La placa se lavó cinco veces con 300 μ L de amortiguador de lavado por pozo. Se adicionaron 100 μ L de estreptavidina fosfatasa alcalina 0.02 μ g/mL en diluyente de anticuerpo por pozo, y la placa se incubó a temperatura ambiente durante una hora con agitación (300 rpm). La placa se lavó cinco veces con 300 μ L de amortiguador de lavado por pozo. Se adicionaron 200 μ L de pNPP (p-nitrofenilfosfato) 1 mg/mL en amortiguador de dietanolamina con MgCl₂ 0.5 mM por pozo, y la placa se incubó durante 30 a 45 minutos a temperatura ambiente con agitación (300 rpm). El progreso de la reacción se monitoreó determinando la densidad óptica: cuando el estándar superior alcanzó una OD entre 2.0 y 3.0, se adicionaron 50 μ L de NaOH 2N por pozo. La densidad óptica de cada pozo se determinó dentro de 30 minutos, usando un lector de placas microtiter ajustado a 405 nm. Los datos se analizaron en ajuste XL usando un ajuste de curva de 4-parámetros.

[00139] Se usaron los siguientes reactivos en los análisis descritos anteriormente. Amortiguador de Fosfato Salino Dulbecco sin Calcio o Magnesio (Gibco, Número de Catálogo 14190); medio mínimo esencial Eagle (MEM; Gibco, Número de Catálogo 11090); penicilina-estreptomicina (Gibco, Número de Catálogo 15140); L-glutamina, 200 mM (Gibco, Número de Catálogo 25030); HEPES, 1M (Gibco, Número de Catálogo 15630); suero bovino fetal ("FBS"; HyClone, Número de Catálogo SH30070.03); lipopolisacáridos de *Escherichia*

coli K-235 ("LPS"; Sigma, Número de Catálogo L2018); IgG Monoclonal Purificada de Ratón anti-TNF- α (R&D Systems, Número de Catálogo MAB210); Paquete de Amortiguador Carbonato-Bicarbonato BupH™ (Pierce, Número de Catálogo 28382); HEPES (PM 238.3; Sigma, Número de Catálogo H3575); NaCl (Sigma, Número Catálogo S7653); albúmina de suero bovino ("BSA"; Jackson ImmunoResearch, Número de Catálogo 001-000-162); monolaurato de polioxietileno 20 sorbitan (Sigma, Número de Catálogo P2287); cloruro de magnesio hexahidratado (Sigma, Número de Catálogo M2670); TNF- α humano recombinante (R&D Systems, Número de Catálogo 210TA010); IgG de cabra purificada por afinidad con TNF- α biotinilado (R&D Systems, Número de Catálogo BAF210); estreptavidina fosfatasa alcalina (Jackson ImmunoResearch, Número de Catálogo 016-050-084); Amortiguador de Sustrato dietanolamina (Pierce, Número de Catálogo 34064); *p*-nitrofenil fosfato (Sigma, número de catálogo N2765).

Ejemplo C

Actividad del Compuesto 72 contra varias quinasas

[00140] Se evaluó la actividad p38 α del Compuesto 72 usando un ensayo de quinasa p38 α radioactiva desarrollado en el laboratorio, usando ATF-2 como sustrato. Se determinó la selectividad del Compuesto 72 evaluando la actividad de 202 proteínas quinasas en presencia del Compuesto 72 1 μ M. Las determinaciones de IC₅₀ fueron realizadas posteriormente para aquellas quinasas inhibidas por >80% en la selección inicial (concentración de ATP a K_m) por protocolos establecidos.

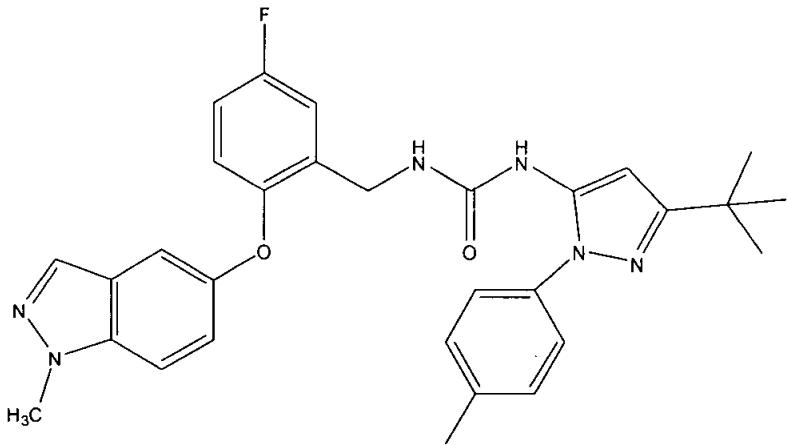
[00141] Como se muestra en la Tabla 1, el Compuesto 72 es un potente inhibidor de la tirosina quinasa citoplasmática p38 α de Abelson (Abl), el gen relacionado con Abelson (Arg) y el receptor Tie-2 tirosina quinasa. Adicional a estas actividades, el Compuesto 72 también es moderadamente potente contra la forma resistente a Imatinib de BCR-Abl T315I, la familia src de tirosinas quinasas Hck, Lyn y Fyn, y el receptor tirosina quinasa FGFR1 (receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 1; FGFR1) y VEGFR2 (receptor del factor de crecimiento vascular endotelial 2; KDR).

Tabla 1

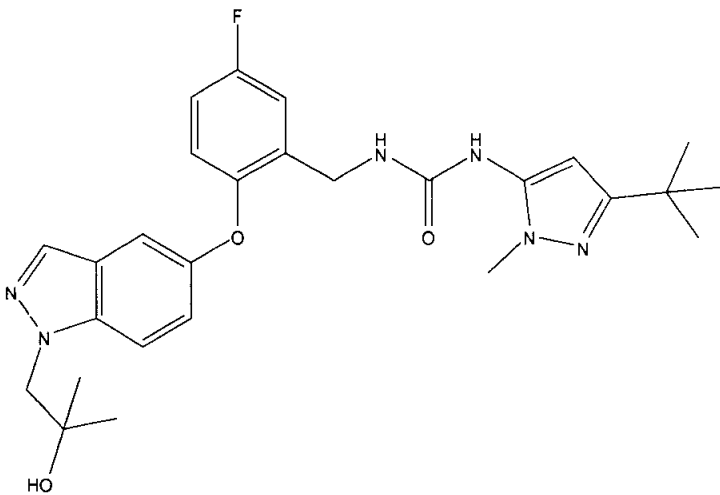
Quinasa	IC ₅₀
p38 α	<2 nM

Abl	4 nM
Arg	10 nM
Tie2	1 nM
Abl (T315I)	68 nM
Hck	26 nM
Lyn	25 nM
Fyn	41 nM
FGFR1	28 nM
VEGFR	74 nM

A manera de comparación, también se evaluaron los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 del documento WO 2004/078116.



Ejemplo 94



Ejemplo 138

Los resultados se proveen en la Tabla 1a a continuación.

Tabla 1a

	Ejemplo 94	Ejemplo 138
Quinasa	IC ₅₀	IC ₅₀
P38 α	<2 nM	<2 nM
Abl	10 nM	>500 nM
Tie2	4 nM	>500 nM

Los resultados muestran que el compuesto 72 es un inhibidor significativamente más potente de Abl y Tie2 que los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 del documento WO 2004/078116.

Ejemplo D

Actividad celular del Compuesto 72 contra la vía p38

[00142] Las células HeLa se trataron con el Compuesto 72 durante 60 minutos de manera previa a la estimulación con anisomicina 1 μ g/mL durante 60 minutos para inducir la activación de la vía p38. Las células se marcaron con anticuerpos contra la forma fosforilada de HSP27 (Ser78) y GAPDH como un control de normalización. Se adquirieron imágenes de las células y se cuantificaron usando un medidor LI-COR Aeries™.

[00143] Los resultados demostraron que el Compuesto 72 es un potente inhibidor de la vía p38 en células, con un IC₅₀ aparente de 2 nM. En un ensayo funcional de células, también se evaluó la habilidad de este compuesto para inhibir la producción de TNF- α en sangre entera tratada con lipopolisacárido bacteriano (LPS) para inducir la producción de citoquinas (detectado mediante ELISA), generando un IC₅₀ aparente de 30 nM.

Ejemplo E

Actividad celular del Compuesto 72 contra el receptor Tie2

[00144] Durante el curso del experimento, las HUVECs se cultivaron sin suero durante 2 horas y luego se estimularon con 200 ng/mL de Angiopoyetina-1 (Ang-1), agonista del receptor Tie2. Las células se colectaron a los tiempos indicados y se sometieron a inmunoblot con anticuerpos contra fosfo-AKT, fosfo-Erk, fosfo-HSP27, fosfo-p38 y GAPDH. Las señales se cuantificaron y normalizaron a GAPDH para evaluar la magnitud de la inducción como resultado de la activación del receptor Tie2. Los resultados se demostraron como un inmunoblot y gráfica mostrando el curso en el tiempo de la activación de la vía de Erk, AKT y p38 en respuesta a Ang-1, agonista del receptor Tie2 en células vasculares del endotelio

umbilical humano (HUVECs). Los resultados muestran que solo las vías de AKT y Erk son activadas en respuesta a la activación del receptor Tie2.

[00145] Para el estudio de la activación de Tie2, las HUVECs se cultivaron sin suero durante 2 horas y posteriormente fueron tratadas con concentraciones variantes del Compuesto 72 durante 60 minutos de manera previa a la estimulación con Ang-1 200 ng/mL durante 10 minutos. Posteriormente, el receptor Tie2 se inmunopurificó (IP) y se sometió a inmunoblot con anticuerpos anti-fosfotirosina (pTyr) y anti-Tie2 para evaluar el grado de autofosforilación de Tie2. Los lisados se sometieron a inmunoblot con anticuerpos anti-fosfo-Erk y anti-fosfo-AKT (Ser473), respectivamente. Las señales se cuantificaron y se normalizaron a GAPDH como un control de carga. Los resultados se mostraron en un inmunoblot y una gráfica. El tratamiento con el compuesto 72 resulta en la inhibición dependiente de la dosis tanto de la autofosforilación de Tie2, como de sus efectores corriente abajo Erk y AKT con un IC_{50} de <33 nM para el primero y <11 nM para el último.

Ejemplo F

Actividad celular del Compuesto 72 contra BCR-Abl

[00146] Se trató la línea celular K562 de leucemia mielógena positiva crónica BCR-Abl con varias concentraciones de Imatinib o del Compuesto 72 según indicación, durante 72 horas a 37 °C, 5% CO₂. Posteriormente se midió la viabilidad celular usando CellTiter Blue (Promega) para determinar los valores de IC_{50} para cada compuesto. Los valores de IC_{50} determinados fueron 278 nM y 62 nM para Imatinib y el Compuesto 72, respectivamente.

[00147] Se prepararon extractos de células K562 tratadas con concentraciones variantes de Imatinib o del Compuesto 72 durante 2 horas a 37°C, 5% CO₂ y se realizó un inmunoblot para Abl autofosforilado (p-Abl, Tyr245) y sustratos Abl STAT5 (pSTAT5, Tyr694) y CrkL (pCrkL, Tyr207). Los resultados muestran que el Compuesto 72 es más que cuatro veces más potente que Imatinib para inhibir la proliferación en la línea celular K562 impulsada por BCR-Abl. Se midieron los resultados de inmunoblot de extractos de K562 tratados con pBCR-Abl, pSTAT5, pCrkL o GAPDH a las concentraciones 5000, 1000, 333, 111, 37 y 0 nM de Imatinib o del Compuesto 72. Este ensayo muestra que tanto el Compuesto 72 como Imatinib son capaces de inhibir la autofosforilación de BCR-Abl así como sus sustratos STAT5 y CrkL. De acuerdo con los datos de

proliferación, el compuesto 72 es más potente en la inhibición de la fosforilación de estos sustratos.

Ejemplo G

Propiedades físicas, Perfil metabólico y Perfil de seguridad de los Compuestos 72 y 74

1. Determinación de la Solubilidad

[00148] Los resultados de la determinación de la solubilidad se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Solubilidad

Compuesto 72	Compuesto 74 (Profármaco)
pH 3.0 <0.005 mg/mL	pH 1.2 <1 mg/mL
pH 7.4 <0.005 mg/mL	pH 6.5 >1000 mg/mL
	pH 7.4 ~940 mg/mL

A manera de comparación, se encontró que las solubilidades de los compuestos de los Ejemplos 94 y 138 del documento WO 2004/078116 son <0.001 mg/mL a pH 6.5 y 7.4.

2. Ensayos de inhibición de CYP (Fluorescente, CL-EM)

[00149] Los valores de IC₅₀ para CYP3A4, CYP2C19 y CYP2C19 se derivaron midiendo la relación de la formación de metabolito de un sustrato específico al estándar interno en comparación con el control mediante cromatografía líquida / espectrometría de masas (LC/MS) usando microsomas reunidos de hígado humano (n = 1). Los valores de IC₅₀ para CYP2D6 y CYP1A2 se derivaron midiendo la fluorescencia relativa en comparación con el control de sondas fluorescentes específicas para la isoforma P450 disponibles comercialmente y proteína recombinante (n = 1). Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Perfil de Inhibición de CYP (Compuesto 72)

	IC ₅₀
CYP3A4	Midazolam: ~8 µM Testosterona: ~10 µM
CYP2D6	3 µM
CYP2C9	5 µM (CL/EM)
CYP2C19	25 µM (CL/EM)
CYP1A2	25 µM

3. Ensayos de toxicidad no específicos

[00150] Se evaluó la unión del Compuesto 72 (ensayo de desplazamiento de ligando) a 10 µM contra el siguiente panel de 28 receptores, canales de iones y transportadores.

[00151] De las 28 entidades moleculares seleccionadas, solo el canal de sodio (site 2) mostró interactuar significativamente (desplazamiento >50%) con el compuesto.

4. Ensayos de evaluación de Seguridad

[00152] El ensayo de hERG se llevó a cabo usando un protocolo estándar de patch clamp. El ensayo AMES (ensayo de reversión de mutación bacteriana) se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo. Se evaluó el Compuesto 72 a 0.5-5000 µg/placa de evaluación con/sin activación de S9. Los ensayos *In vitro* e *in vivo* de micronúcleo se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Seguridad

Ensayo	Compuesto 72
Control en parche hERG	64% de inhibición a 10 µM
mutagenicidad AMES	Negativo
Micronúcleos (<i>in vitro</i>)	Negativo

5. Estudio de tolerabilidad

[00153] Se administró el Compuesto 72 (como el Compuesto 74) a ratones (raza CD-1, n = 5 por grupo de dosis) a 10, 30 o 100 mg/kg dos veces al día (BID) durante 14 días. La pérdida de peso se evaluó a lo largo del estudio. La sangre se removió en el día final para pruebas clínicas químicas (albúmina, fosfatasa

alcalina, ALT, Amilasa, BUN, calcio, colesterol, creatinina, glucosa, fosfato, bilirrubina total, TP, Globulina). Los resultados se muestran en la Tabla 5. No se observaron mortalidades relacionadas a compuesto. En este estudio, incluso a 100 mg/kg, no se observaron toxicidades que limiten la dosis (DLTs) y por lo tanto no se identificó una dosis máxima tolerada (MTD).

Tabla 5: Tolerabilidad (*in vivo*)

Especies	Raton (CD-1)
Dosis	10, 30 y 100 mg/kg dos veces al día
Duración del estudio	14 días
Pérdida de peso	<5% (todos los frupos de dosis)
Resultados de pruebas clínicas químicas	Dentro del rango normal (todos los grupos de dosis)
Comentarios:	No mortalidades relacionadas con compuesto, no se observaron DLTs, no se alcanzó el MTD

Ejemplo H

Farmacocinética del Compuesto 72 en Roedores y Primates

[00154] Se usaron métodos no compartimentalizados (independiente de modelo) para analizar las curvas de concentración de plasma en el tiempo derivadas de todas las especies como se describe a continuación. A continuación se proveen los valores de depuración (Cl), porcentaje de relaciones de extracción calculado (ER%), volumen de distribución (Vz), tiempo para alcanzar ½ de la concentración máxima (t_{1/2}) y exposición (AUC, área bajo la curva) para ratón, rata y mono, respectivamente.

[00155] 1. Ratón: Se examinó la farmacocinética del Compuesto 72 tras la administración intravenosa en bolo (IV, 1 mg/kg) u oral (PO, 10 mg/kg) en ratones hembra Balb/c (n = 3/punto de tiempo). Las muestras de sangre se obtuvieron a los 15 y 30 minutos, y 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la dosis de PO, y a 15 y 30 minutos, y 1, 2, 4, y 8 horas para la administración IV.

IV: 1mg/kg	Oral: 10mg/kg
Cl = 2.6.mL/min/kg	AUC = 10.5 µg-hr/kg
ER = 2.8%	F = 16%

$$V_z = 0.085 \text{ L/kg} \quad C_{\max} = 1.8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$t_{1/2} = 3.9 \text{ hrs}$$

$$\text{AUC} = 6.6 \text{ } \mu\text{g-hr/kg}$$

[00156] 2. Rata: Se examinó la farmacocinética del Compuesto 72 en ratas macho Sprague-Dawley (n = 3/punto de tiempo) tras la administración IV de bolo (2 mg/kg) o la administración PO (30 mg/kg). La sangre se muestreó a los mismos puntos de tiempo señalados para el estudio de PK de ratón.

IV: 1mg/kg	Oral: 30mg/kg
Cl = 3.2.mL/min/kg	AUC = 35 $\mu\text{g-hr/kg}$
ER = 4.6%	F = 15%
$V_z = 0.048 \text{ L/kg}$	$C_{\max} = 4.5 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$t_{1/2} = 3.9 \text{ hrs}$	
AUC = 4.7 $\mu\text{g-hr/kg}$	

[00157] 3. Mono: Se examinó la farmacocinética del Compuesto 72 en monos macho Cynomolgus (n = 3/punto de tiempo) después de la administración IV de bolo (2 mg/kg) o PO (10 mg/kg). La sangre se muestreó a los mismos puntos de tiempo señalados para el estudio de PK de ratón.

IV: 1mg/kg	Oral: 10mg/kg
Cl = 8.8.mL/min/kg	AUC = 7.6 $\mu\text{g-hr/kg}$
ER = 20%	F = 38%
$V_z = 3.2 \text{ L/kg}$	$C_{\max} = 0.26 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$t_{1/2} = 4.6 \text{ hrs}$	
AUC = 4.1 $\mu\text{g-hr/kg}$	

Ejemplo I

Compuesto 72 en un modelo de rata de artritis inducida por colágeno (CIA)

[00158] El Compuesto 72 se administró en la forma de profármaco (Compuesto 74) en este estudio. Se inyectaron ratas Lewis hembra (200 g); n = 8 por grupo de tratamiento con adyuvante incompleto de Freund / colágeno tipo II (inyección de 300 μL de 0.6 mg colágeno, superficie dorsal día 0 y día 6). A los animales se les administró: (1) Vehículo: 5 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Compuesto 72: 0.3, 1, 3 o 10 mg/kg, PO, BID x 7; o (3) ENBREL®: 10 mg/kg, SC, Días 1 y 4. ENBREL® sirvió como un control positivo. Los compuestos se administraron en

los días 11-18. El diámetro del tobillo se midió en el día 11 y de ahí en adelante cada día (Figura 70). Al final del estudio se determinó el peso de la pata y la histología microscópica. Se removieron tanto las patas traseras como las rodillas, las patas traseras se pesaron y posteriormente, junto con las rodillas, se pusieron en formalina. Después de 1-2 días en fijador y 4-5 días en descalcificador, las articulaciones de los tobillos y las rodillas se procesaron, fijaron, seccionaron y tiñeron con azul de toluidina. A los tobillos y las rodillas se les asignó una calificación de 0-5 para la inflamación, formación de pannus y resorción ósea.

[00159] Los resultados muestran que el Compuesto 72 mejoró de manera dependiente de la dosis todos los parámetros asociados con este modelo de enfermedad. Para el diámetro del tobillo e histopatología, el Compuesto 72 tenía un ED₅₀ aparente de 1.5 y 3.0 mg/kg, respectivamente. A 10 mg/kg, el Compuesto 72 inducía la regresión de la enfermedad al final del estudio.

Ejemplo J

El Compuesto 72 inhibe la angiogénesis *in vivo*

[00160] En este estudio, se administró el Compuesto 72 en la forma de profármaco (Compuesto 74). A ratones CD-1 hembra (19-22 g), n = 4 por grupo de tratamiento, se les implantó subcutáneamente 500 µL de matrigel con una cantidad reducida de factor de crecimiento que contenía 1500 ng/mL de bFGF o 0 ng/mL de bFGF como control negativo. Los compuestos de prueba fueron administrados mediante sonda oral en las dosis indicadas y de acuerdo con el cronograma indicado. A los animales se les administró (1) Vehículo: amortiguador de fosfato 30 mM, 10 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Compuesto 72: 10, 30 o 100 mg/kg de fármaco activo, PO, BID x 7; o (3) SU11248: (Sutent) 40 mg/kg, PO, QD x 7. Sutent es un inhibidor de KDR y sirvió como control positivo de fármaco en este estudio. Los animales fueron sacrificados en el día 7. Se recolectó el matrigel, se pesó y se homogeneizó en amortiguador de fosfato salino, pH 7.4. Las muestras se centrifugaron y al lisado resultante se le analizó la concentración de hemoglobina mediante reacción colorimétrica. El Compuesto 72 inhibía la angiogénesis inducida por bFGF de manera dependiente de la dosis. At 100 mg/kg, se inhibió significativamente la angiogénesis en un 72% (p<0.05, ensayo de comparación múltiple de Dunnett).

Ejemplo K

El Compuesto 72 inhibe los Tumores impulsados por BCR-Abl

[00161] En este estudio, el Compuesto 72 se administró en la forma de profármaco (Compuesto 74). A los ratones Scid-beige hembra (17-20 g), n = 8 por grupo, se les implantó con 107 células K562 de manera subcutánea en el costado derecho. Los compuestos de prueba se administraron mediante sonda oral en las dosis indicadas y de acuerdo con los cronogramas establecidos, cuando los tumores alcanzaron un tamaño de $200 \pm 50 \text{ mm}^3$. A los animales se les administró (1) Vehículo: 20% Trappsol, 10 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Compuesto 74: 30 o 100 mg/kg de fármaco activo, PO, BID o QD x 7) o (3) Imatinib (GLEEVEC®): 400 mg/kg, PO, BID x 7. Imatinib es un inhibidor conocido de Abl y en este estudio sirvió como un control positivo de fármaco. A lo largo de todo el estudio se monitorearon el tamaño del tumor y el peso corporal. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

Tratamiento	% de Regresión y respuestas completas
Imatinib 400 mg/kg BID	98% R (6/8)
Compuesto 72 30 mg/kg BID 100 mg/kg BID 100 mg/kg QD	Estasis (0/8) 93% R (5/8) Estasis (0/8)

[00162] El Compuesto 74 fue eficaz en este modelo. La administración de 30 mg/kg BID o 100 mg/kg QD llevó a la estasis del tumor, y ocurrió un 94% de regresión del tumor y 5 u 8 animales tenían una respuesta completa (100% de regresión del tumor) cuando la dosis se incrementó a 100 mg/kg BID. El Compuesto 72 se toleró bastante bien causando menos del 10% de pérdida de peso molecular a lo largo del tratamiento.

Ejemplo L

Compuesto 72 en un modelo de mieloma múltiple

[00163] En este estudio, el Compuesto 72 se administró en la forma de profármaco (Compuesto 74). A ratones hembra Scid-beige (17-20 g), n = 8 por grupo, se les implantó de manera subcutánea 15×10^6 RPMI 8226 células en el costado derecho con vehículo (20% Trappsol, 10 mL/kg, PO, BID x 14) o el Compuesto 74 (100 mg/kg de fármaco activo, PO, BID x 14). Los compuestos de

prueba se administraron mediante sonda oral en las dosis indicadas y de acuerdo con los cronogramas indicados cuando los tumores alcanzaron un tamaño de $200 \pm 50 \text{ mm}^3$. Se monitoreó el tamaño del tumor y el peso corporal a lo largo del estudio y se evaluó la habilidad del Compuesto 72 para inhibir el crecimiento tumoral ($\% \text{ TGI} = (1 - T/C) \times 100$). Los resultados se muestran en la Tabla 7. El Compuesto 72 (administrado en su forma profármaco como el Compuesto 74) produjo un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento tumoral durante el curso del estudio. Estos datos sugieren que el efecto del Compuesto 72 observado en este estudio es adicional a o independiente de su habilidad para inhibir la p38. El Compuesto 72 fue bien tolerado causando menos del 10% de pérdida de peso corporal a lo largo del tratamiento.

Tabla 7

Grupo	% de inhibición del crecimiento tumoral (TGI)
Control	0%
Compuesto 37d 60 mg/kg	31%
Compuesto 72 100 mg/kg	67%

[00164] Se trató la línea celular de mieloma múltiple RPMI 8226 con varias concentraciones del inhibidor del proteasoma MG-132 (para servir como control positivo) o del Compuesto 72 durante 72 horas at 37 °C, 5% CO₂. Posteriormente se midió la viabilidad celular usando CellTiter Blue (Promega) para determinar los valores de IC₅₀ para cada compuesto (Tabla 8). El tratamiento con el Compuesto 72 no fue anti-proliferativo para el rango de concentración indicado. El MG-132 produjo un IC₅₀ que se encontraba dentro de los rangos históricos de la evaluación desarrollada en el laboratorio (Tabla 8). Estos datos indican fuertemente que el efecto TGI observado para el Compuesto 72 visto *in vivo* puede deberse a efectos extra-tumor. Dicho papel es consistente con los reportes publicados que sugieren que la actividad tanto del p38 como del Tie2 puede ser crítica para el crecimiento/supervivencia de este tipo de tumor *in vivo*.

Tabla 8

Compuesto	IC ₅₀ de proliferación
MG-132	114 nM
Compuesto 72	>10,000 nM

Ejemplo M

Actividad celular del compuesto 72 contra VEGFR2

[00165] Las HUVECs se cultivaron sin suero durante 2 horas y posteriormente se trataron con concentraciones variables del Compuesto 72 o el inhibidor de control VEGFR2 ((Z)-3-[(2,4-Dimetil-3-(etoxycarbonil)pirrol-5-il)metilidenil]indolin-2-on) durante 60 minutos de manera previa a la estimulación con 20 ng/mL VEGF durante 5 minutos. Se prepararon lisados de varios tratamientos y se realizó el inmunoblot con anticuerpos específicos al VEGFR2 fosforilado en Tyr1175. Los blot resultantes para el Compuesto 72 y el inhibidor de control VEGFR1 se adquirieron y cuantificaron usando el medidor LI-COR Aeries™. Se normalizó la señal del fosfo-VEGFR2 a GAPDH como control de carga. Estos valores fueron usados posteriormente para generar valores de IC₅₀ para el Compuesto 72 y el inhibidor de VEGFR2 de control VEGFR1, empleando un protocolo de ajuste de curvas de 4-parámetros.

[00166] El compuesto 72 inhibe la autofosforilación del receptor endotelial vascular tipo II (VEGFR2) en HUVECs. Los resultados muestran que el tratamiento con el Compuesto 72 resulta en una inhibición de la autofosforilación del VEGFR2 en el residuo Tirosina 1175 de manera dependiente de la dosis, con un IC₅₀ de 48 nM.

EJEMPLOS PREPARATIVOS

[00167] En los ejemplos descritos a continuación, a menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas están establecidas en grados Celsius. Los reactivos se compraron a proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Company, Lancaster, TCI o Maybridge, y se usaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario. El tetrahidrofurano (THF), la N,N-dimetilformamida (DMF), el diclorometano (DCM), el tolueno, el dioxano y el 1,2-difluoroetano se compraron a Aldrich en botellas con sello de seguridad y se usaron tal como se recibieron.

[00168] Las reacciones descritas a continuación fueron realizadas por lo general bajo una presión positiva de nitrógeno o argón o con un tubo de secado (a menos que se indique lo contrario) en solventes anhidros, y de manera típica, a los recipientes de reacción se les acopló una septa de caucho para la introducción de sustratos y reactivos mediante una jeringa. El material de vidrio se secó en el horno o por medio de calor.

[00169] La cromatografía en columna se realizó en un sistema Biotage (Fabricante: Dyax Corporation) que tenía una columna de gel de sílice o un cartucho de sílice SepPak cartridge (Waters).

[00170] Los espectros de RMN ^1H se registraron en un instrumento Varian que operaba a 400 MHz. Los espectros de RMN ^1H se obtuvieron para soluciones en CDCl_3 (reportados en ppm), usando cloroformo como el estándar de referencia (7.25 ppm). De ser necesario, se usaron otros solventes de RMN. Cuando se reportan las multiplicidades de los picos, se usan las siguientes abreviaciones: s (singlete), d (doblete), t (triplete), m (multiplete), br (ancho), dd (doble doblete), dt (doble triplete). Cuando se dan las constantes de acoplamiento, se reportan en Hertz (Hz).

Ejemplo 1

Preparación de 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea (72): Método1

[00171] La síntesis del compuesto (72) de acuerdo con el Método1 se muestra en el Esquema 1, pasos A a J.

[00172] Paso A: Preparación de 2-(benciloxi)-5-fluorobenzonitrilo **62**: En un balón de fondo redondo de 12 L y 4 bocas, equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura, a una suspensión de hidruro de sodio (74 g, 1.82 mol) en DMF (1.95 L) se le adicionó lentamente alcohol bencílico (142 g, 1.3 mol) mediante un embudo de adición durante 30 minutos en un baño de hielo bajo nitrógeno. La mezcla se agitó en un baño de hielo (0°C) durante 120 minutos, se adicionó una solución de 2,5-difluorobenzonitrilo (180 g, 1.3 mol) en DMF (650 mL) mediante un embudo de adición durante 35 minutos. La mezcla resultante se llevó a temperatura ambiente. Después de 2 horas, se enfrió la mezcla en un baño de hielo (4°C) y la reacción se detuvo con NH_4Cl saturado (130 mL) seguido de la adición de agua (2.6 L x 3). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y el precipitado se filtró y se lavó con agua (650 mL x 3). El

sólido se secó al vacío durante 2 días para dar 292 g (99.3 %) del compuesto deseado.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.78 (dd, 1H, $J = 3.2$ Hz, $J = 8.2$ Hz), 7.5-7.76 (m, 1H), 7.35-7.48 (m, 6H), 5.28 (s, 2H).

[00173] Paso B: Preparación de 5-Fluoro-2-hidroxibenzonitrilo **63**: En un recipiente de 5 L bajo N_2 se puso Pd /C 10% (2.48 g) seco. Se adicionó lentamente bajo N_2 una solución de 2-(benciloxi)-5-fluorobenzonitrilo (148 g, 651 mmol) en metanol (2.34 L). Se removió el aire del recipiente mediante vacío y el recipiente se cargó con H_2 (bala) tres veces. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El proceso anterior se repitió dos veces más para que se completara la reacción. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 2 horas. La mezcla se filtró bajo N_2 a través de una almohadilla de Celita y se lavó con AcOEt (150 mL x 2). El residuo de paladio se lavó con agua (50 mL) y se descartó. Los filtrados se concentraron para dar (94.6 g, 106 %) del compuesto deseado como un sólido amarillo.

EM (APCI -) se detectó m/z 137 (M-1).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.07 (br, 1H), 7.58 (dd, 1H, $J = 3.2$ Hz, $J = 8.2$ Hz), 7.43 (m, 1H), 6.91-7.03 (dd, 1H $J = 4.5$ Hz, $J = 9.2$ Hz).

[00174] Paso C: Preparación de 5-Fluoro-2-(4-metil-3-nitrofenoxi) benzonitrilo **64**: En un balón de 5L de 3 bocas, equipado con un agitador mecánico, un condensador, y una sonda de temperatura J-Kem, se adicionó una solución de 5-fluoro-2-nitrotolueno (158 g, 1.02 mol) en N,N-dimetilacetamida (500 mL) a una mezcla de 5-fluoro-2-hidroxibenzonitrilo (147 g, 1.07 mol) y carbonato de potasio (163 g, 1.2 mol) en N,N-dimetilacetamida (573 mL) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 100 °C. Después de 8 horas, se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se adicionó agua (3400 mL) en un baño de hielo. El precipitado se filtró, se lavó con agua (1073 mL x 2), y se secó al vacío (40 °C) para dar (264 g, 90 %) del compuesto deseado como un sólido café.

EM (APCI -) se detectó m/z 272 (M-1).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.41-7.48 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.07-7.14 (m, 1H), 6.88-7.10 (m, 1H), 2.63 (s, 3H).

[00175] Paso D: Preparación de 2-(3-Amino-4-metilfenoxi)-5-benzonitrilo **65**: En un balón de fondo redondo de 4 bocas y 12000 mL, equipado con un agitador mecánico, un condensador, y una sonda de temperatura J-Kem, se pusieron 2-(3-

amino-4-metilfenoxi)-5-benzonitrilo (247 g, 907 mmol) y polvo de Zn (297 g, 4.5 mol) y se suspendieron en MeOH/THF 1:1 (2.2 L). Se adicionó lentamente NH_4Cl acuoso saturado (1.6 L) durante 40 minutos mediante un embudo de adición (manteniendo la temperatura interna por debajo de 60 °C). La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se removió el polvo de Zinc mediante filtración y la torta se lavó con AcOEt (450 mL x 3). Se adicionaron AcONH_4 acuoso saturado (1500 mL, preparado a partir de 2 kg de AcONH_4 y 4 L de H_2O) y H_2O (1500 mL x 2). Los filtrados se concentraron en rotavapor hasta que el solvente que quedó era mayoritariamente agua. Posteriormente el sólido se filtró y se lavó con H_2O (1500 mL x 4), y se secó al vacío para dar 211.5 g (96 %) del compuesto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 243 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.65-6.85 (m, 5H), 3.60 (br, 2H), 2.17 (s, 3H).

[00176] Paso E: Preparación de 2-(1*H*-indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo **66**: En un balón de fondo redondo de 6 L equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura J-KEM, se trató una solución fría (0°C) de 2-(3-amino-4-metilfenoxi)-5-benzonitrilo (209 g, 862 mmol) y NH_4BF_4 en ácido acético (1.75 L)/agua (862 mL) con HCl concentrado (359 mL) gota a gota durante 2 minutos. La suspensión se agitó en un baño de hielo durante 30 minutos y se adicionó nitrito de sodio. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y posteriormente se llevó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se removieron los solventes en rotavapor y se formó un azeótropo con tolueno (200 mL x 2). El residuo se secó al vacío durante toda la noche. El sólido se suspendió en acetona (200 mL) y AcOEt (200 mL) y los solventes se removieron en rotavapor. El residuo se suspendió en AcOEt (200 mL) y se removió en rotavapor. El residuo se suspendió en AcOEt (1145 mL) y se adicionó acetato de potasio (254 g, 2.6 mol) en una porción. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas y se filtró. La torta se lavó con AcOEt (500 mL x 6). Los filtrados combinados se concentraron. El residuo se suspendió en AcOEt (500 mL) y heptano (500 mL). El sólido amarillo se filtró (141.3 g). El licor madre se concentró y se recrystalizó a partir de MTBE/Hexano (100 mL/100 mL) para dar 20.1 g. El segundo licor madre se concentró y se precipitó con MTBE/heptano (100 mL/100 mL) para dar 14.28 g adicionales. Los combinados dieron 176 g (81% de rendimiento) del compuesto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 254 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13.38 (br, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.94 (dd, 1H, $J = 3,1$ Hz, $J = 8.2$ Hz), 7.64 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.54 (m, 2H), 7.21 (dd, 1H, $J = 9$ Hz), 6.96 (dd, 1H, $J = 4.3$ Hz, $J = 9.3$ Hz).

[00177] Paso F: Preparación de 2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo **67**: Se suspendió 2-(1H-Indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo (5.000 g, 19.7 mmol) en N,N-dimetilacetamida (50 mL) y se adicionó hidruro sodio (0.684 g, 25.7 mmol) en porciones, a temperatura ambiente. Se adicionó gota a gota 2-Bromo-1,1-dimetoxietano (3.49 mL, 29.6 mmol) en una porción y la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida para dar el material crudo, la cual se repartió entre AcOEt y NH_4Cl acuoso saturado. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3x), salmuera y se secaron (MgSO_4) y posteriormente se concentraron a presión reducida para dar el material crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna flash (eluyente AcOEt 25% en Hexanos) para dar 3.88 g (57.6 %) del compuesto deseado. El isómero N-2 no se aisló.

EM (APCI +) se detectó m/z 342 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.98 (s, 1H), 7.54 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.36 (m, 2H), 7.16 (m, 2H), 6.82 (dd, 1H, $J = 4.3$ Hz, $J = 9.3$ Hz), 4.76 (t, 1H, $J = 5.3$ Hz), 4.49 (d, 2H, $J = 5.3$ Hz), 3.41 (s, 6H).

[00178] Paso G: Preparación de (2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-iloxi)-5-fluorofenil)metanamina **68**: Se adicionó gota a gota 2-(1-(2,2-Dimetoxietil)-1H-indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo (3.80 g, 11.13 mmol) en THF (100 mL) a una suspensión en agitación a 0°C de hidruro de litio y aluminio (0.6338 g, 16.70 mmol) en THF (100 mL). La mezcla de reacción se mantuvo a 0°C hasta adicionar completamente el material de partida. La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó hasta que se verificó mediante análisis por HPLC el consumo total del material de partida. La mezcla de reacción se adicionó gota a gota a una solución acuosa saturada de sal de Rochelle en agitación a temperatura ambiente. La mezcla de dos fases se agitó rápidamente durante 30 minutos hasta que las sales de aluminio estuvieron en solución. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con más AcOEt. Los orgánicos combinados se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida para dar 3.73 g (97 %) del producto crudo, el cual se usó sin purificación adicional.

EM (APCI +) se detectó m/z 346 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (s, 1H), 7.48 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6.9-7.15 (m, 5H), 4.76 (t, 1H, $J = 5.3$ Hz), 4.49 (d, 2H, $J = 5.3$ Hz), 3.88 (s, 2H), 3.36 (s, 6H).

[00179] Paso H: Preparación de 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)-5-fluorobencil)urea **70**: Se suspendieron (2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)-5-fluorofenil)metanamina (2.00 g, 5.791 mmol), 2,2,2-tricloroetil 3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-ilcarbamato (3.516 g, 8.686 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (3.026 mL, 17.37 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (50 mL) y se calentaron a 80°C durante toda la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con AcOEt y NH_4Cl acuoso saturado. Los orgánicos se lavaron con agua (3x), salmuera, se secaron (MgSO_4) y posteriormente se concentraron a presión reducida para dar el material crudo, el cual se purificó mediante cromatografía en columna flash (eluyente 35 - 45% de AcOEt en Hexanos). Después de la evaporación del solvente, se obtuvo el producto deseado como una espuma de color amarillo pálido (2.57 g, 74 %).

EM (APCI +) se detectó m/z 602 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.88 (s, 1H), 7.43 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6.72-7.30 (m, 9H), 6.18 (s, 1H), 6.01 (br, 1H), 5.47 (t, 1H, $J = 6.1$ Hz), 4.76 (t, 1H, $J = 5.3$ Hz), 4.44 (t, 4H, $J = 5.6$ Hz), 3.38 (s, 6H), 2.37 (s, 3H), 1.30 (s, 9H).

[00180] Paso I: Preparación de 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-oxoetil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea **71**: Se disolvió 1-(3-*tert*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-((2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)-5-fluorofenil)metil)urea (0.500 g, 0.8324 mmol) en diclorometano a temperatura ambiente y se adicionó yodotrimetilsilano (0.3554 mL, 2.497 mmol) gota a gota a la solución en agitación. La mezcla de reacción se monitoreó mediante análisis por HPLC y cuando no se detectó material de partida, se diluyó la mezcla con diclorometano y se lavó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ acuoso al 10%, NaHCO_3 acuoso saturado, salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida para dar 536 mg (rendimiento cuantitativo) del producto crudo, el cual se usó sin purificación adicional.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.76 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 6.78-7.30 (m, 10H), 6.17 (s, 1H), 5.99 (br, 1H), 5.44 (q, 1H, $J = 6.1$ Hz), 4.46 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 1.34 (s, 9H).

[00181] Paso J: Preparación de 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)bencil)urea **72**: Se suspendió 1-(3-*tert*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-((5-fluoro-2-(1-(2-oxoetil)-1*H*-indazol-5-iloxi)fenil)metil)urea (2.179 g, 3.929 mmol) en MeOH (40 mL) y se trató con borohidruro de sodio (0.7432 g, 19.64 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que se observó mediante análisis por HPLC la conversión total del material de partida al producto. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y posteriormente se diluyó con NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo en diclorometano. Los orgánicos se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida para dar el material crudo, el cual se purificó mediante cromatografía en columna flash (eluyente iPrOH 2-6% en DCM) para dar 1.21 g (55 %) del compuesto deseado. EM (APCI +) se detectó *m/z* 557 (M+1).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.29 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.68 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz), 7.35 (s, 1H), 6.85-7.4 (m, 8H), 6.24 (s, 1H), 4.87 (t, 1H, *J* = 5.4 Hz), 4.43 (t, 1H, *J* = 5.6 Hz), 4.28 (d, 1H, *J* = 5.9 Hz), 3.80 (q, 1H, *J* = 5.5 Hz), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

Ejemplo 2

Preparación de 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato (**74**): Método 1

[00182] En el Esquema 1, pasos K a L se muestra la síntesis del compuesto (**74**) de acuerdo con el Método 1.

[00183] Paso K: Preparación de dibencil 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-5-il)etilfosfato **73**: Se suspendieron 1-(3-*tert*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-((5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)fenil)metil)urea (0.357 g, 0.6414 mmol), difenil diisopropilfosforamidita (0.2970 ml, 0.9620 mmol) y 2*H*-tetrazol (0.07189 g, 1.026 mmol) en DMF (10 mL) y se agitaron a temperatura ambiente hasta que el análisis por CCD (DCM-Et₂O 10:1) mostró el consumo total del material de partida. Se adicionó hidroperóxido de *t*-Butilo (0.4439 mL, 3.207 mmol) y posteriormente se monitoreó la reacción mediante análisis por HPLC. Cuando se completó la reacción, se adicionó 10% de Na₂S₂O₃ acuoso y se agitó la mezcla de reacción durante 10 minutos. La mezcla de reacción se vertió en NaHCO₃ acuoso saturado y se extrajo en AcOEt. Los orgánicos combinados se lavaron con agua (2x) y salmuera. Los orgánicos se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión

reducida para dar el material crudo, el cual se purificó mediante cromatografía en columna flash (eluyente AcOEt 30 - 40% en Hexanos) para dar 458 mg (87 %) del compuesto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 817 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (s, 1H), 6.7-7.35 (m, 10H), 6.18 (s, 1H), 6.16 (s, 1H), 4.62 (s, 1H), 5.36 (t, 1H, $J = 6$ Hz), 4.81 (d, 4H, $J = 8.2$ Hz), 4.54 (t, 2H, $J = 5.1$ Hz), 4.39 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

[00184] Paso L: Preparación de 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato **74**: Se suspendió dibencil 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil fosfato (1.920 g, 2.35 mmol) en EtOH (0.05M, 50 mL) y se adicionaron ciclohexa-1,4-dieno (3.56 ml, 82.14 mmol) y Pd/C 10% (20%/peso, 0.384 g). La mezcla de reacción se llevó a reflujo durante toda la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de papel GF y se lavó con MeOH. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida para dar el material crudo, el cual se disolvió en MeOH y se pasó a través de un filtro acrodisc de Gellman (0.45 μm) para remover las trazas de contaminación de paladio. Después de la evaporación del solvente, la goma resultante se precipitó en CH_3CN y los sólidos formados se recolectaron mediante filtración y se secaron en alto vacío durante 3 horas para dar 1.21 g (89 %) del compuesto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 637 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.30 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.71 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6.88-7.37 (m, 10H), 6.24 (s, 1H), 4.61 (br, 1H), 4.28 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz), 4.19 (dd, 2H, $J = 5.2$ Hz), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

Ejemplo 3

Preparación de 1-(3-*tert*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-((5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)fenil)metil)urea (72): Método 2

[00185] En el Esquema 2, pasos A a F se muestra un método alternativo para la síntesis del compuesto (72), de acuerdo con el Método 2.

[00186] Paso A: Preparación de 2-(4-amino-3-metilfenoxi)-5-fluorobenzonitrilo **65**: En un balón de 4 bocas de 3 L al cual se le había evacuado el aire y se había llenado nuevamente con argón, se disolvieron 2,5-difluorobenzonitrilo (295.3 ml, 812.0 mmol) y 4-amino-3-metilfenol (100.0 g, 812.0 mmol) en DMSO seco (2.75 M) con agitación rápida a temperatura ambiente. A la solución se le evacuó el aire y se llenó nuevamente con argón (3x). Se adicionó carbonato de potasio

(185.2 g, 1340 mmol) (-325 mesh). A la mezcla de reacción se le retiró el aire y se llenó nuevamente con argón (3x) y se calentó a 80 °C (sonda interna) durante 16 horas. La CCD indicó que la conversión había sido total. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió lentamente en 2 L de agua con hielo con rápida agitación. El residuo en el balón de fondo redondo se tomó repetidamente en agua y se vertió sobre agua con hielo hasta que se alcanzara un volumen total de 3 L y todos los sólidos estuvieran en agua con hielo. La suspensión se agitó rápidamente durante 2 horas a medida que alcanzaba la temperatura ambiente. Los sólidos de color café se recolectaron mediante filtración, se lavaron con agua (3 L), se secaron en aire, se secaron con dique de látex, y se secaron en alto vacío a 40°C durante 44 horas para dar 194 g (99%) del producto deseado como un sólido color tostado.

EM (APCI +) se detectó m/z 243 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.65-6.85 (m, 5H), 3.60 (br, 2H), 2.17 (s, 3H).

[00187] Paso B: Preparación de 2-(1H-Indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo **66**: En un balón de 500 mL de una boca que contenía una barra de agitación magnética grande, se tomó 2-(4-amino-3-metilfenoxi)-5-fluorobenzonitrilo (274.5 ml, 219.6 mmol) en cloroformo (0.8 M) y se trató con acetato de potasio (25.86 g, 263.5 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se trató con anhídrido acético (62.28 mL, 658.8 mmol) mediante un embudo de adición durante 5 minutos. Se ajustó un condensador de reflujo, la reacción se trató con 100 mL de cloroformo adicionales, y se calentó a 40 °C. Se adicionó gota a gota nitrito de isoamilo (58.74 mL, 439.2 mmol) mediante un embudo de adición funnel. El embudo de adición se lavó con 60 mL + 40 mL de cloroformo, se removió y se reemplazó con un tapón de vidrio. La reacción se calentó a reflujo durante 20 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío hasta dar un sólido café. Después de secarlo en alto vacío durante 30 minutos, se suspendió el sólido café en 1 L de agua, se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y se filtró. El sólido naranja – café resultante (83 g) se tomó en 400 mL de MeOH y se trató con ácido clorhídrico 1.0 M (241.6 mL, 241.6 mmol) a temperatura ambiente. Se ajustó un condensador de reflujo y se calentó a 70 °C durante 20 horas. La reacción se enfrió a 0°C y se adicionó hidróxido de sodio 1.0 M (252.6 mL, 252.6 mmol), seguido de agua (250 mL). La suspensión amarilla resultante se agitó en el baño de hielo durante 10 minutos y posteriormente se dejó en reposo. La suspensión se filtró, se lavó con agua (1 L), se secó en aire, se

secó con dique de látex, y se secó en alto vacío a 40°C durante 36 horas, para dar 50.7 g (91 %) del producto deseado como un sólido de flujo libre color tostado. EM (APCI +) se detectó m/z 254 (M+1).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.38 (br, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.94 (dd, 1H, $J = 3,1$ Hz, $J = 8.2$ Hz), 7.64 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.54 (m, 2H), 7.21 (dd, 1H, $J = 9$ Hz), 6.96 (dd, 1H, $J = 4.3$ Hz, $J = 9.3$ Hz).

[00188] Paso C: Preparación de 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo **77**: Se disolvió 2-(1H-Indazol-5-iloxi)-5-fluorobenzonitrilo (40.7 g, 160.7 mmol) en 400 mL de DMF y la solución se puso en un baño de agua (temperatura ambiente). Se adicionó carbonato de cesio (157.1 g, 482.2 mmol). Después de 30 minutos en un baño de agua, se adicionó 2-bromoacetato de metilo (33.47 ml, 353.6 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. A la mezcla se adicionó agua (400 mL, ligeramente exotérmica) y toda la mezcla se transfirió a un embudo de decantación de 2 L (que contenía 400 mL de AcOEt). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 200 mL). Los extractos combinados se lavaron con agua y salmuera y las capas se separaron. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró a través de una almohadilla de Celita, se concentró a presión reducida, y se secó al vacío durante 1 hora para dar 66.3 g de un sólido color tostado. El sólido se disolvió en 400 mL de AcOEt caliente y se trató con carbón durante 10 minutos en reflujo. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celita y se concentró a presión reducida. Los materiales insolubles se removieron mediante filtración. El sólido se disolvió en 300 mL de AcOEt caliente y se adicionaron 300 mL de hexanos. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El sólido café claro se recolectó mediante filtración, 32.24 g (61.7 %).

EM (APCI +) se detectó m/z 326 (M+1). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8.03, 1H), 7.41 – 7.36 (m, 3H), 7.22 – 7.16 (m, 2H), 6.81 (dd, $J = 4.29$ Hz, 9.37 Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 3.79 (s, 3H).

[00189] Paso D: Preparación de diclorhidrato de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo **78**: El 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo (10.00 g, 30.74 mmol) se puso en un recipiente de hidrogenación Parr de 2500mL. Se adicionaron metanol (0.1M, 310 mL) y HCl concentrado (25.62 ml, 307.4 mmol). Se adicionó Pd/C 10% (2.0g, tipo Degussa) y el recipiente se purgó con gas hidrógeno (tres veces, sin hacer evacuación con vacío). El recipiente se cargó con gas hidrógeno a 40 psi (275,8 kPa) y se dejó en

el agitador durante 18 horas. A la mezcla se adicionó 1.0g adicional de Pd/C 10% y la mezcla se puso nuevamente en el hidrogenador Parr durante 18 horas adicionales. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celita y se concentró a presión reducida (manteniendo la temperatura del baño por debajo de 20°C). Se formó el azeótropo del residuo con MeOH (3 X 100 mL). La temperatura del baño se elevó a 40°C después del tercer azeótropo. El residuo (aceite) se secó en alto vacío durante 2 horas para proveer el producto deseado como un sólido amarillo (11.6g, 93.8%).

EM (APCI +) se detectó m/z 330 (M+1).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.08 (s, 1H), 6.84-7.76 (m, 6H), 5.43 (s, 2H), 4.8 (br, 2H), 4.105 (q, 2H, $J = 5.6$ Hz), 3.68 (s, 3H).

[00190] Paso E: Preparación de 2-(5-(2-((3-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo **79**: Se trató una solución de diclorhidrato de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo (17.5 g, 43.51 mmol) en dimetilacetamida (0.5M, 88 mL) con 2,2,2-tricloroetil-3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato (17.96 g, 44.38 mmol), seguido de diisopropiletilamina (30.3 mL, 174 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 80°C durante toda la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se distribuyó entre AcOEt y NH_4Cl acuoso saturado. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se filtró a través de papel 1PS, se evaporó al vacío hasta obtener una espuma café. La espuma se precipitó en éter, y los sólidos precipitados se recolectaron mediante filtración para dar 22.55 g (89 %) del compuesto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 585 (M+1).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.3 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.68 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 6.85-7.37 (m, 8H), 6.24 (s, 1H), 5.4 (s, 2H), 4.28 (d, 2H, $J = 5.8$ Hz), 3.68 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

[00191] Paso F: Preparación de 1-(3-tert-Butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-iloxi)fenil)metil)urea **72**: Se trató una solución de 2-(5-(2-((3-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metilo (4.6 g, 7.87 mmol) en metanol (0.1M, 80 mL) con borohidruro de sodio (893 mg, 23.6 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, y el solvente se evaporó al vacío hasta obtener un residuo amarillo oscuro. El residuo se distribuyó entre diclorometano y NH_4Cl acuoso saturado. La capa

orgánica se filtró a través de papel 1PS, se evaporó al vacío y se purificó en Biotage eluyendo con iPrOH 2-10% en DCM. Las fracciones deseadas se evaporaron al vacío hasta dar una espuma blanca, 2.97 g (68 %).

EM (APCI +) se detectó m/z 557 (M+1).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.29 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.68 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 7.35 (s, 1H), 6.85-7.4 (m, 8H), 6.24 (s, 1H), 4.87 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz), 4.43 (t, 1H, $J = 5.6$ Hz), 4.28 (d, 1H, $J = 5.9$ Hz), 3.80 (q, 1H, $J = 5.5$ Hz), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

Ejemplo 4

Preparación de 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato (74): Método2

[00192] En el Esquema 2, pasos G a H se muestra un método alternativo para la síntesis del compuesto (72), de acuerdo con el Método 2.

[00193] Paso G: Preparación de di-*tert*-butil 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)etil fosfato **80**: Se trató una solución de 1-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-iloxi)fenil)metil)urea (1.5 g, 2.69 mmol) en DMF (0.2M, 15 mL) con imidazol (183 mg, 2.69 mmol), y clorhidrato de imidazol (423 mg, 4.04 mmol) a temperatura ambiente. Después de observar la disolución completa, se adicionó di-*tert*-butil diisopropilfosforamidita (1.28 mL, 4.04 mmol). Se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. Se adicionó lentamente peróxido de hidrógeno (acuoso 50%, 0.535 mL, 9.43 mmol) a temperatura ambiente, y la agitación continuó durante 1 hora. Mediante CL y CCD se determinó que se había completado la reacción. Posteriormente, el residuo se distribuyó entre diclorometano y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acuoso al 10%. La capa acuosa se extrajo con AcOEt (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se filtraron a través de papel 1PS, se evaporaron al vacío hasta obtener un aceite amarillo. El aceite se purificó mediante un tapón de gel de sílice eluyendo con DCM, MeOH 3-5% en DCM. Las fracciones deseadas se evaporaron al vacío para dar el producto deseado como una espuma blanca, 1.59 g (79 %).

EM (APCI +) se detectó m/z 749 (M+).

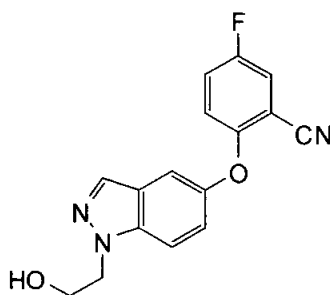
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.29 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.73 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 6.79-7.35 (m, 8H), 6.23 (s, 1H), 4.62 (t, 2H, $J = 4.7$ Hz), 4.26 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.25 (s, 18H).

[00194] Paso H: Preparación de 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato **74**: Se trató una solución de di-*tert*-butil 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil fosfato (3.66 g, 4.89 mmol) en EtOH (0.2M, 24 mL) con HCl 5N en *i*PrOH (2.93 mL, 14.7 mmol) a temperatura ambiente. Se continuó agitando a temperatura ambiente durante toda la noche. El solvente se evaporó al vacío, y el residuo se co-evaporó a partir de tolueno y éter (2x). La espua beige se tomó en MeOH y se vertió lentamente en un vaso de precipitados que contenía agua. Los sólidos precipitados se recolectaron mediante filtración para dar 2.83 g (91%) del producto deseado.

EM (APCI +) se detectó m/z 637 ($M+1$).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.30 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.71 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6.88-7.37 (m, 10H), 6.24 (s, 1H), 4.61 (br, 1H), 4.28 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz), 4.19 (dd, 2H, $J = 5.2$ Hz), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

Ejemplo 5



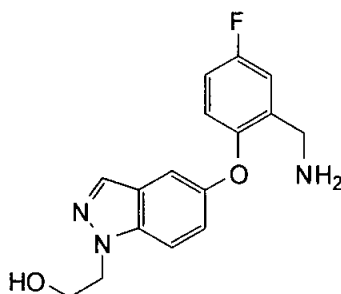
5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-iloxi)benzonitrilo (**78A**)

[00195] A una solución de 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)acetato de metilo **77** (preparado como en el Ejemplo 3) (60.0 g, 184.4 mmol) en MeOH (370 mL) se adicionó NaBH₄ (24.42 g) en cinco porciones de 5 gramos durante 90 minutos. La temperatura se incrementó de 25°C a 44.7°C en la adición final de NaBH₄. La mezcla se concentró al vacío. Al concentrado se adicionó NH₄Cl saturado (600 mL) y AcOEt (600 mL) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1 hora. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con AcOEt (2 X 100 mL). Los orgánicos combinados se lavaron con NH₄Cl saturado (2 X 100 mL), agua (200 mL), salmuera (500 mL), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron a través de papel GF/F y se concentraron dando un sólido naranja brillante. El sólido crudo se disolvió en CH₂Cl₂ (1 L) y se adicionaron hexanos (2.25 L) con agitación. Se formó un sólido café claro y después de agitar durante 30 min se recolectó el sólido y se secó en alto vacío para dar 45.5 g. El filtrado se concentró a presión reducida. Este material se disolvió nuevamente en CH₂Cl₂ (100 mL) y se

adicionaron hexanos (200 mL). El sólido resultante (6.2 g) se recolectó mediante filtración. Los resultados se combinaron para dar 51.7 g (94.3%) de **78A**.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (s, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.39 – 7.36 (m, 2H), 7.21 – 7.16 (m, 2H), 6.90 (dd, 1H), 4.49 (t, 2H), 4.17 – 4.13 (m, 2H), 2.81 (t, 1H).

Ejemplo 6



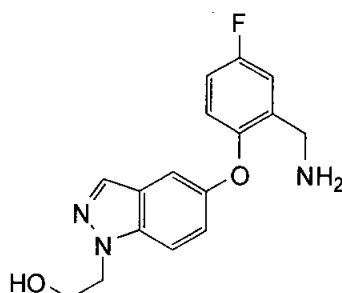
2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)etanol (**79A**)

(MétodoA)

[00196] A un agitador Parr de 250 mL se adicionaron 5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-iloxi)benzonitrilo **78A** (preparado como en el Ejemplo 5) (80.0 g, 269.1 mmol), $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (32 g, 40% de carga), EtOH (5 L) y HCl concentrado (224 mL, 2691 mmol). El recipiente se cerró, se purgó con hidrógeno, se ventiló y se cargó con hidrógeno a 180 psi (1.24×10^3 kPa). La temperatura interna se disminuyó a 18°C y después de agitar durante 23 horas, se estableció mediante HPLC que la reacción se había completado. Se removió la mezcla de reacción anterior y se repitió la secuencia completa dos veces con 80 g del material de partida, y posteriormente con 53.2 g del material de partida. Las mezclas de reacción combinadas (4 reacciones) se filtraron a través de GF/F y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en HCl 1N (3.0 L) y se lavó con AcOEt (3 X 2L). Se adicionó AcOEt (2 L) a la capa acuosa y las fases se agitaron vigorosamente durante 10 minutos y posteriormente se removió la capa orgánica. Este paso se repitió 2 veces más y la capa acuosa se transfirió a un recipiente enfriado (baño de hielo). Se adicionaron porciones de NaOH (40 g x 11) a la mezcla acuosa ácida de tal manera que la temperatura no subiera por encima de 35°C . Cuando el pH era ~ 14 , se transfirió la mezcla a un embudo de decantación y se extrajo con CH_2Cl_2 (4 X 1L). Los extractos combinados se lavaron con agua (2 X 1 L) y salmuera (2 X 1 L). el extracto se secó sobre MgSO_4 (~ 250 g), se filtró a través de GF/F y se concentró a presión reducida. El concentrado se disolvió en CH_2Cl_2 (3.5 L) y se adicionaron hexanos (4 L). Después de adicionar los primeros 2 L de hexanos, se formó un sólido café. Después de agitar durante 1 hora, se recolectó el sólido mediante filtración y la torta se lavó con CH_2Cl_2 /hexanos 1:2 (500 mL). La torta se secó al vacío para dar

165.1 g (55.6%) de 79A. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (s, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.17-7.12 (m, 3H), 6.87 (td, 1H), 6.80 (dd, 1H), 4.46 (t, 2H), 4.12 (t, 2H), 3.86 s (2H), 1.87 (br s, 1H).

Ejemplo 7

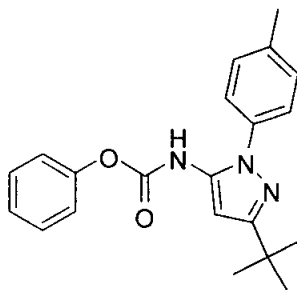


2-(5-(2-(Aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)etanol (79A)

(MétodoB)

[00197] A una solución de (5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-iloxi)benzonitrilo (1.0 g, 3.36 mmol) y $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (148 mg, 0.336 mmol) en MeOH (30 mL) se adicionó NaBH_4 (636 mg, 16.8 mmol) en porciones (2-3), y la reacción se agitó durante 3 horas. Se adicionó lentamente una solución de Na_2CO_3 saturado (15 mL) y la mezcla se agitó durante 75 minutos, durante los cuales se formó un sólido fino. Se filtró la mezcla de reacción a través de GF/F y la torta se lavó con MeOH (20 mL). El filtrado se concentró hasta aproximadamente 15 mL al vacío, se adicionó acetato de isopropilo (20 mL), y la mezcla se concentró. Se adicionó acetato de isopropilo (20 mL) al concentrado y se agitó la mezcla durante 5 minutos. Se separaron las fases y la capa orgánica se lavó con salmuera 10% (20 mL). Se adicionó ácido cítrico (0.1 M, 20 mL) y las fases se mezclaron vigorosamente. La capa orgánica se removió y la acuosa se lavó con acetato de isopropilo (20 mL) y AcOEt (20 mL). A la capa acuosa se adicionaron acetato de isopropilo (20 mL) y NaOH 50% (1 mL). Las fases se mezclaron vigorosamente y la acuosa se removió. La orgánica se lavó con salmuera 10% (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró dando 850 mg (85%).

Ejemplo 8

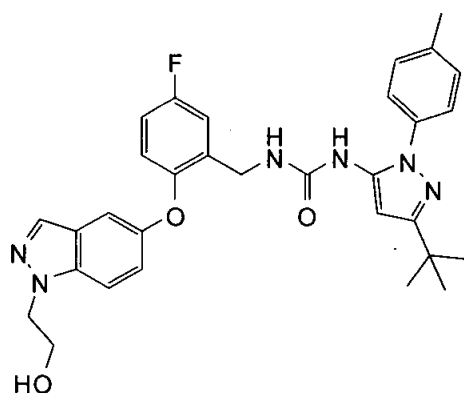


Fenil 3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato

[00198] A una solución de 3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-amina (102.9 g, 448.9 mmol) en AcOEt (1 L) a 10.9 °C se adicionó una solución de NaOH (2.5 M, 269 mL), y la mezcla de reacción bifásica se calentó hasta 15.9 y posteriormente se estabilizó. Se adicionó cloroformiato de fenilo (98.4 g, 156.5 mmol) en una porción y la temperatura se incrementó a 25.5 y posteriormente se estabilizó. Se removió el baño de hielo y se monitoreó la reacción mediante HPLC. Después de 1 hora, se adicionaron 25 mL adicionales de NaOH 2.5M. La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche y posteriormente se diluyó con AcOEt (200 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (1L), se secó sobre Na₂SO₄ (200 g) y se concentró hasta aproximadamente 400 a 500 mL de AcOEt. La solución concentrada se calentó a 60 °C. Cuando los sólidos se disolvieron, se adicionó lentamente heptano (2 L), durante lo cual se formaron sólidos. Después de agitar durante 30 minutos se recolectó el sólido mediante filtración y la torta se lavó con 400-500 mL de heptano. La torta se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para dar 156.9 g (95.0%) del compuesto del título.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 – 7.31 (m, 6H), 7.26-7.225 (m, 2H), 7.13 (br s, 2H), 6.96 (br s, 1H), 6.47 (br s, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.34 (s, 9H).

Ejemplo 9



1-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-fluoro-2-(1-(2-hidroxietyl)-1H-indazol-5-iloxi)encil)urea (72):

[00199] A una solución a 4.1°C de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il)etanol (71.55 g, 237 mmol) en DMA (350 mL) se adicionó una solución en DMA (350 mL) de fenil 3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato (80.5 g, 230 mmol). La temperatura se elevó a 18.4 °C y se estabilizó. Se removió el baño de hielo y se agitó la reacción durante 2 horas. Se adicionó una porción adicional de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenoxi)-1H-indazol-1-il) etanol y se agitó la reacción durante 2 horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de isopropilo (1.6 L) y agua (2.4 L). Se removió la capa acuosa y la capa orgánica se lavó con NaOH 0.5N (2 X 2.4 L) y posteriormente con salmuera saturada (1 X 2.4

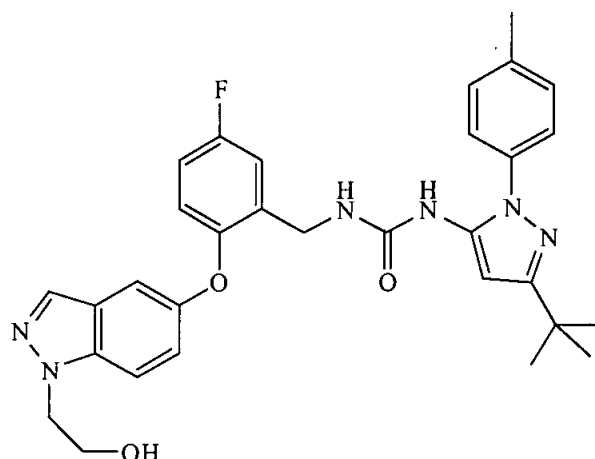
L). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 (300 g) y se concentró para dar 110.8 g (86.6%).

[00200] La descripción anterior es considerada ilustrativa solo para los principios de la invención. Además, dado que para aquellos versados en la materia serán fácilmente aparentes numerosas modificaciones y cambios, no se desea limitar la invención a la construcción exacta y al proceso mostrado como se describió anteriormente. De manera acorde, se entiende todas las modificaciones adecuadas y los equivalentes caen dentro del alcance de la invención como se define mediante las reivindicaciones que siguen.

[00201] Las palabras "comprende," "comprendiendo," "incluye," e "incluyendo," al ser usadas en esta especificación y en las siguientes reivindicaciones, pretenden especificar la presencia de las características, los enteros, componentes, o pasos mencionados, pero no excluyen la presencia o adición de uno o más enteros, características, componentes, pasos, o grupos de los mismos, diferentes.

Lo que se reivindica es:

1. El compuesto que tiene la Fórmula I:

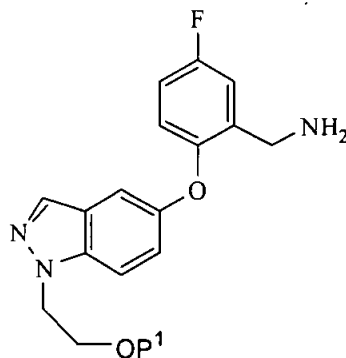


I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

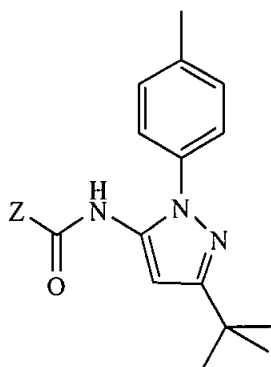
2. Un proceso para la preparación de un compuesto como se definió en la reivindicación 1, el cual comprende:

- (a) Acoplar un compuesto de Fórmula II



II

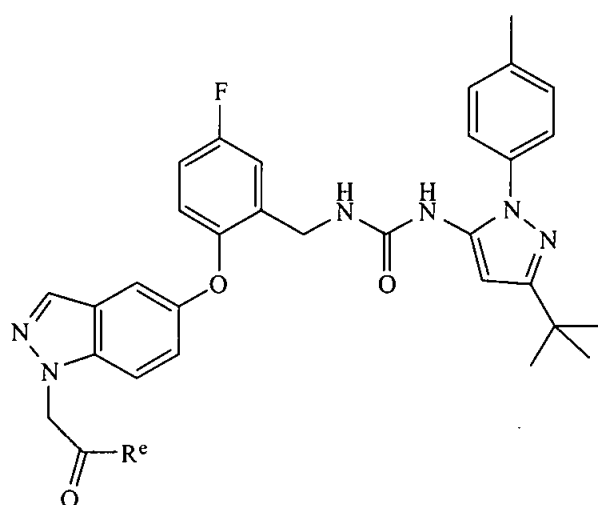
o una sal del mismo, en la cual P¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, con un compuesto de Fórmula III



III

en la cual Z representa un grupo saliente, o el isocianato correspondiente; o

(b) reducir un compuesto de Fórmula IV



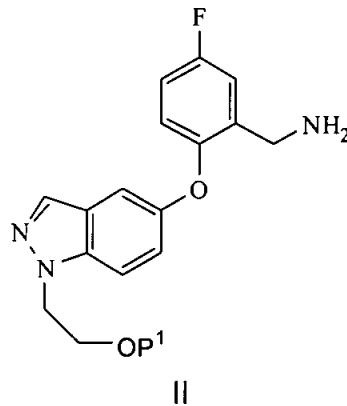
IV

En donde R^e representa un átomo de hidrógeno de un residuo de un alcohol;
seguido de remover cualquier grupo protector y, si se desea, formar una sal farmacéuticamente aceptable.

3. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso como un medicamento.
5. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una condición mediada por quinasas en un mamífero.
6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicha condición mediada por quinasas es enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, trastorno óseo destructivo, trastorno proliferativo, enfermedad infecciosa, enfermedad viral, o enfermedad neurodegenerativa.
7. Un método para tratar una condición mediada por quinasas en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero un compuesto de la reivindicación 1 en una cantidad efectiva para tratar dicha condición mediada por quinasas.
8. El método de la reivindicación 7, en donde dicha condición mediada por quinasas es enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, trastorno ósea

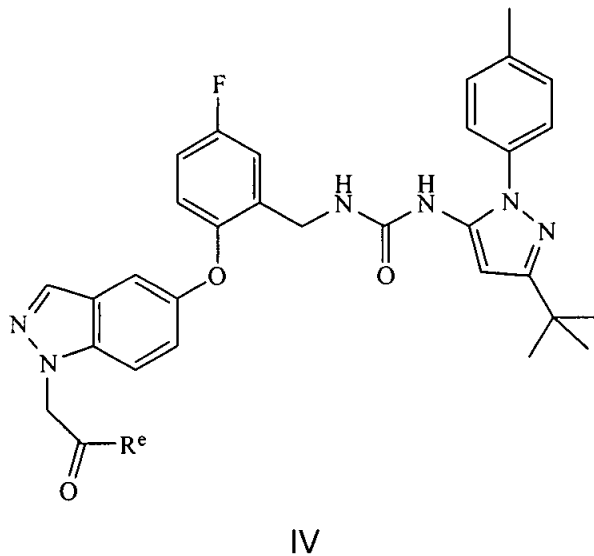
destrutivo, trastorno proliferativo, enfermedad infecciosa, enfermedad viral, o enfermedad neurodegenerativa.

9. Un compuesto de Fórmula II



o una sal del mismo, en el cual P¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo.

10. Un compuesto de Fórmula IV



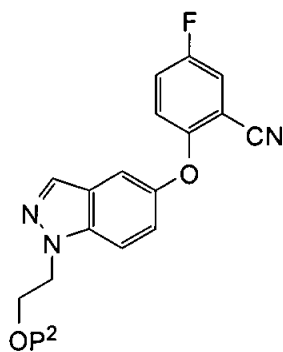
En donde R^e representa un átomo de hidrógeno o un residuo de un alcohol.

11. El uso de un profármaco de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de una condición mediada por quinasas en un mamífero.

12. El uso como se reivindica en la reivindicación 11, en donde el profármaco es 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. El uso de acuerdo con la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en donde dicha condición mediada por quinasas es enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, trastorno óseo destructivo, trastorno proliferativo, enfermedad infecciosa, enfermedad viral, o enfermedad neurodegenerativa.
14. Un método para tratar una condición mediada por quinasas en un mamífero con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende administrar a un mamífero un profármaco de un compuesto de la reivindicación 1 en una cantidad efectiva para tratar dicha condición mediada por quinasas.
15. El método de la reivindicación 14, en donde dicha condición mediada por quinasas es enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune, trastorno óseo destructivo, trastorno proliferativo, enfermedad infecciosa, enfermedad viral, o enfermedad neurodegenerativa.
16. El método de la reivindicación 14 o 15, en donde el profármaco es 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
17. 2-(5-(2-((3-(3-*Tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido)metil)-4-fluorofenoxi)-1*H*-indazol-1-il)etil dihidrogenofosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
18. Un proceso para la preparación de un compuesto como se definió en la reivindicación 17, el cual comprende fosforilar un compuesto como se definió en la reivindicación 1.
19. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de la reivindicación 17 y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
20. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde Z es un grupo arilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de F, Cl, Br, y NO₂.
21. El proceso de la reivindicación 2, en donde dicho compuesto de Fórmula (II) ha sido preparado mediante el método que comprende:

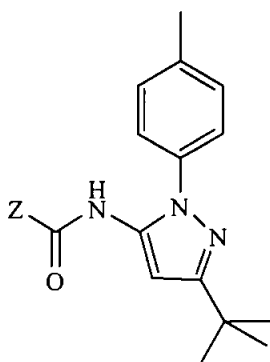
(i) reducir un compuesto de Fórmula (V)



(V)

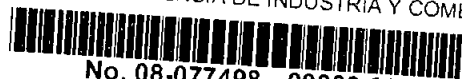
en la cual P² representa hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, bajo condiciones de hidrogenación catalítica o en presencia de boruro de níquel.

22. Un compuesto de Fórmula III



III

en la cual Z representa un grupo arilo no sustituido o sustituido.



No. 08-077498- -00000-0000

Fecha: 2008-07-25 16:41:04 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION [x]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [x] 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [x] 1
- ◆ Descripción de la invención [x] 26
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [x] 2

COMPLETA [x]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha 25 de Julio de 2008

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

100

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

ogotá,
020

octor(a)
LOREDA RICAURTE ALICIA
poderado(a) y/o Representante de
RRAY BIOPHARMA, INC.

REFERENCIA	Radicación No.	8 77498
	Solicitud internacional	PCT/US2007/002272
	Fecha inicio fase nacional	31/08/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	12159

omo resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de a Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular nica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del erecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la omunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos eberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del ódigo de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace eferencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes CT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen laramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de onformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de a Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

n cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le equiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de otificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. n caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se onsiderará abandonada y perderá su prelación.

otifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

LIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
efe de la división de Nuevas Creaciones

l anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de echa 26 SET. 2008
dpall