

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 696 700**

(51) Int. Cl.:

C07D 403/04 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.12.2013 PCT/KR2013/012204**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO14104757**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.12.2013 E 13867650 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018 EP 2940014**

(54) Título: **Derivado de 2,3-dihidro-isoindol-1-on como supresor de quinasa BTK y composición farmacéutica que incluye el mismo**

(30) Prioridad:

28.12.2012 US 201261746980 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.01.2019

(73) Titular/es:

**CRYSTALGENOMICS, INC. (100.0%)
5thF, Tower A, Korea Bio Park, 700
Daewangpangyo-ro, Bundang-gu
Seongnam-si, Gyeonggi-do 463-400, KR**

(72) Inventor/es:

**HONG, YONG RAE;
NA, JEONG EUN;
MIN, IM SOOK;
CHA, HYUN JU;
KWON, SOOL KI;
RO, SEONGGU y
CHO, JOONG MYUNG**

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 696 700 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivado de 2,3-dihidro-isoindol-1-on como supresor de quinasa BTK y composición farmacéutica que incluye el mismo

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un compuesto seleccionado de 19 compuestos específicos de fórmula (I) y las sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, y una composición farmacéutica que comprende los mismos como un ingrediente activo para el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causado por una activación anormal o no controlada o proteína quinasa.

Antecedentes de la invención

- 10 La tirosina quinasa de Bruton (BTK) es un miembro de la familia TEC de tirosina quinasas no receptoras, que consta de 650 residuos de aminoácidos y contiene el dominio con homología a pleckstrina (PH), la región de dedos de zinc, el dominio SH3, el dominio SH2 y el dominio de la quinasa. Recientemente, el dominio de la quinasa, entre dichos dominios, está ganando más intereses como objetivo de fármacos.

15 La BTK se encuentra en las células B y en las células hematopoyéticas, en lugar de algunas células T, células asesinas naturales, células plasmáticas, etc. Cuando la BTK es estimulada por las señales del receptor de la membrana de las células B (BCR) que son causadas por diversas respuestas inflamatorias o cánceres, BTK juega un papel importante en la producción de citoquinas como TNF- α , IL-6, etc., así como también en NF- κ B, iniciando la señalización corriente abajo, tal como la fosfolipasa C gamma 2 (PLC γ 2).

20 En el tratamiento de la inflamación, BTK es conocida por mediar las respuestas de los receptores de membrana, por ejemplo, los receptores de antígenos de células B que detectan sustancias inductoras de inflamación, CD40, TLR-4, Fcg y similares. Además, BTK tiene una fuerte influencia en el mecanismo de señalización de la inflamación causada por la estimulación de mastocitos, células B y macrófagos. Por lo tanto, la inhibición de BTK puede bloquear la señalización de IgE, lo que puede retardar la progresión de enfermedades causadas por la activación anormal de BTK. Este mecanismo de señalización es una vía de señalización complicada de la secreción de inmunosustancias. En este procedimiento, la fosforilación y desfosforilación de proteínas se lleva a cabo en un procedimiento de múltiples etapas, y debido a que BTK es una de las etapas de alto nivel en la vía de señalización, junto con la tirosina quinasa del bazo (SYK) y, de este modo, es más eficaz para prevenir la activación de factores que causan respuestas inmunes que otros objetivos de quinasa.

25 Ademáis, en el tratamiento del cáncer, se sabe que BTK modifica las proteínas de superficie de células B y BCR que generan señales de antisuicida. De este modo, la inhibición de BTK puede provocar efectos anticancerígenos contra los cánceres que están asociados con la señalización de BCR, tal como el linfoma. De hecho, el Ibrutinib (PCI-32765) desarrollado por Pharmacyclics Inc. fue aprobado recientemente como un agente contra el cáncer para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) y un ensayo en fase III de AVL-292 desarrollado por Avila Therapeutics para leucemia linfocítica de células pequeñas (SLL) y la CLL está actualmente en curso. Se ha comprobado que estos compuestos son bastante efectivos contra SLL y CLL que son tipos de cáncer relativamente raros. Sin embargo, no lograron resultados satisfactorios contra el linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), que es el tipo de linfoma más prevalente. De este modo, hay una creciente demanda de un fármaco noble.

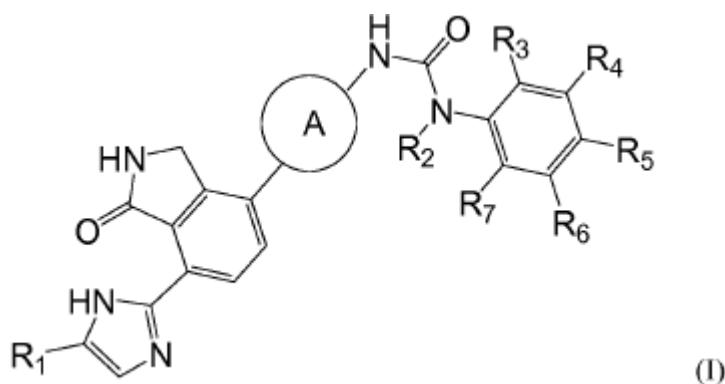
30 Los inhibidores de BTK se conocen, por ejemplo, por la referencia [documento WO 2012/047017 A, 12 de abril de 2012]. El mecanismo de acción del inhibidor de BTK como agente antiinflamatorio así como agente contra el cáncer se describe detalladamente en la referencia [Nature Chemical Biology 7, (2011), 4].

Resumen de la invención

35 De acuerdo con lo anterior, es un objeto de la presente invención proporcionar un compuesto seleccionado de 19 compuestos específicos de fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables, hidratos y solvatos de los mismos, como se define en la reivindicación 1 adjunta.

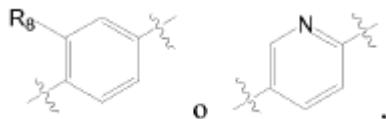
40 Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprenda lo mismo que un ingrediente activo para el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa.

45 De acuerdo con un aspecto de la presente descripción, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en un compuesto de fórmula (I) a continuación y sales, ésteres, profármacos, hidratos, solvatos e isómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos:



en la que,

A es



5 y R₈ es hidrógeno, halógeno o alquilo C₁₋₃,

R₁ y R₂ son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₃,

R₃ a R₇ son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno, ciano, nitro o haloalquilo C₁₋₃.

Descripción detallada de la invención

Las realizaciones de la presente invención se explican en detalle a continuación.

- 10 El compuesto de fórmula (I) y los compuestos según la presente invención pueden formar una sal farmacéuticamente aceptable derivada de un ácido inorgánico u orgánico, y tal sal puede ser una sal de adición de ácido no tóxico farmacéuticamente aceptable que contiene un anión. Por ejemplo, la sal puede incluir sales de adición de ácido formadas por ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico y similares; ácidos carbónicos orgánicos tales como ácido tartárico, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido acético, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético, ácido glucónico, ácido benzoico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido maleico y similares; y ácidos sulfónicos tales como ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalensulfónico y similares. Entre ellos, se prefieren las sales de adición de ácido formadas por ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico o ácido hidrohalogénico y similares.
- 15 La "sal farmacéuticamente aceptable" se puede preparar por métodos convencionales bien conocidos en la técnica. Específicamente, la "sal farmacéuticamente aceptable" de acuerdo con la presente invención se puede preparar, por ejemplo, disolviendo el compuesto de fórmula (I) en un solvente orgánico miscible con agua tal como acetona, metanol, etanol o acetonitrilo y similares; añadir una cantidad excesiva de ácido orgánico o una solución acuosa de ácido inorgánico al mismo; precipitación o cristalización de la mezcla obtenida de este modo. Además, se puede preparar evaporando adicionalmente el solvente o el exceso de ácido del mismo; y luego secar la mezcla o filtrar el extracto usando un filtro de succión.
- 20 Los hidratos o solvatos de los 19 compuestos presentes de fórmula (I) están incluidos dentro del alcance de la presente invención.
- 25 Los 19 compuestos de fórmula (I) de la presente invención son los siguientes:

- 30 1) 1-(2,6-dicloro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;
- 3) 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;
- 4) 1-(2-cloro-6-fluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;
- 5) 1-(2,6-bis-trifluorometil-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

- 6) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-fluoro-6-trifluorometil-fenil)-urea;
- 7) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,4,6-trifluoro-fenil)-urea;
- 8) 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-1-metil-urea;
- 5 9) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-pentafluorofenilurea;
- 10) 1-(2,5-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea;
- 11) 1-(2,4-difluoro-fenil)-3-(3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil)-urea;
- 12) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,6-trifluoro-fenil)-urea;
- 13) 1-(3,5-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;
- 10 14) 1-(3,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isomdol-4-il]-fenil}-urea;
- 15) 1-(4-ciano-3-fluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea;
- 16) 1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea;
- 17) 1-(3-cloro-2,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea;
- 18) 1-(2-cloro-3,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea;
- 15 19) 1-(4-cloro-2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea; y
- 20) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,5,6-tetrafluorofenil)-urea.

El compuesto seleccionado de fórmula (I), sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo se pueden usar para el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa tal como ABL (tirosina quinasa Abelson), ACK (quinasa asociada con cdc42 activada), AXL, Aurora, BLK (tirosina quinasa linfoide B), BMX (quinasa ligada a la médula ósea), BTK (tirosina quinasa de Bruton), CDK (quinasa dependiente de ciclina), CSK (quinasa C-Src), DDR (receptor del dominio de discoidina), EPHA (receptor de la Efrina tipo A quinasa), FER (tirosina quinasa FER (relacionada con fps/fes)), FES (oncogén del sarcoma felino), FGFR (receptor del factor de crecimiento de fibroblastos), FGR, FLT (tirosina quinasa similar a Fms), FRK (quinasa relacionada con Fyn), FYN, HCK (quinasa de células hematopoyéticas), IRR (receptor relacionado con el receptor de insulina), ITK (quinasa de células T inducible por interleuquina 2), JAK (Janus quinasa), KDR (receptor de dominio de inserción de quinasa), KIT, LCK (proteína tirosina quinasa específica de linfocitos), LYN, MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos), MER (c-Mer proto-oncogén tirosina quinasa), MET, MINK (quinasa tipo Misshapen), MNK (quinasa que interactúa con MAPK), MST (quinasa tipo mamífero estéril 20), MUSK (quinasa específica de los músculos), PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas), PLK (quinasa tipo Polo), RET (reorganizado durante la transfección), RON, SRC (coactivador del receptor de esteroides), SRM (espermidina sintasa), TIE (tirosina quinasa con inmunoglobulina y repetición EGF), SYK (tirosina quinasa del bazo), TNK1 (tirosina quinasa, no receptor, 1), TRK (Tropomiosina-receptor-quinasa), TNK (TRAF2 y quinasa de interacción con NCK) y similares.

35 De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona tal compuesto para uso en el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa en un mamífero, que comprende un compuesto de la invención.

40 Las enfermedades relacionadas con la actividad de la quinasa pueden incluir cualquier enfermedad causada por la activación anormal o no controlada de la proteína quinasa. Los ejemplos específicos de los mismos pueden ser cáncer, inflamación asociada con artritis reumatoide y osteoartrosis, asma, alergia, dermatitis atópica o psoriasis, pero no se limitan a esto.

45 Los ejemplos de dicho cáncer incluyen linfoma, leucemia, cáncer de sangre, cáncer de estómago, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de intestino delgado, cáncer de páncreas, cáncer de cerebro, cáncer de huesos, melanoma, cáncer de mama, adenosis esclerosante, cáncer uterino, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer de riñón, sarcoma, cáncer de próstata, cáncer de uretra, cáncer de vejiga, fibroadenoma o glioblastoma, pero no se limita a esto.

La composición farmacéutica puede comprender además al menos un aditivo seleccionado del grupo que consiste en antibiótico, agente alquilante, antimetabolito, agente hormonal, agente inmunológico, agente de tipo interferón y agente anticanceroso.

5 La composición farmacéutica de la presente invención se puede formular directamente, o además contener aditivos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales, por ejemplo, un portador y un excipiente, para formularse de acuerdo con cualquiera de los métodos convencionales bien conocidos en la técnica.

10 El método para el tratamiento, alivio o prevención puede incluir, por ejemplo, administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica que comprende el compuesto de la presente invención a un sujeto que sufre o tiene riesgo de insuficiencia renal crónica, diabetes, cáncer, AIDS, radioterapia, quimioterapia, diálisis renal o anemia causada por cirugía. En una realización, el sujeto es preferiblemente mamífero, y más preferiblemente, humano.

15 La cantidad eficaz de la composición farmacéutica de la presente invención se puede determinar realizando una prueba ordinaria para descubrir la vía de administración más eficaz y el método de preparación apropiado. La composición farmacéutica de la presente invención se puede preparar en cualquier tipo de formulación y sistema de administración de fármacos usando cualquiera de los métodos convencionales bien conocidos en la técnica. La composición farmacéutica de la invención se puede formular en formulaciones inyectables, que se pueden administrar por rutas que incluyen intratecal, intraventricular, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraocular, intramuscular, subcutánea o intraósea. Además, también se puede administrar por vía oral o parenteral a través del recto, los intestinos o la membrana mucosa en la cavidad nasal (véase Gennaro, A. R., ed. (1995) Remington's Pharmaceutical Sciences). Preferiblemente, la composición se administra por vía tópica, en lugar de por vía enteral. 20 Por ejemplo, la composición se puede inyectar o administrar a través de un sistema de administración de fármacos dirigido tal como una formulación de depósito o una formulación de liberación sostenida.

25 La formulación farmacéutica de la presente invención se puede preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica, tal como procedimientos de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Como se mencionó anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden incluir uno o más portadores fisiológicamente aceptables, tales como excipientes y adyuvantes que facilitan el procesamiento de moléculas activas en preparaciones para uso farmacéutico.

30 La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Para inyección, por ejemplo, la composición se puede formular en una solución acuosa, preferiblemente en soluciones reguladoras fisiológicamente compatibles, como la solución de Hank, la solución de Ringer o la solución reguladora salina fisiológica. Para la administración transmucosa o nasal, en la formulación se usan penetrantes apropiados para la barrera que se va a permear. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica. En una realización preferida de la presente invención, el compuesto de la invención se puede preparar en una formulación oral. Para la administración oral, los compuestos se pueden formular fácilmente combinando los compuestos activos con portadores farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica. Tales portadores permiten que los compuestos de la invención se formulen en forma de comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por parte de un sujeto. Los compuestos también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de suppositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

35 40 Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener como excipientes sólidos, opcionalmente moliendo una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir adyuvantes apropiados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes apropiados pueden ser, en particular, cargas tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; formulación de celulosa tal como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmelcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o formulación de polivinilpirrolidona (PVP). Además, se pueden emplear agentes desintegrantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de los mismos, tal como alginato de sodio. Además, se pueden añadir agentes humectantes, tales como dodecilsulfato de sodio y similares.

45 50 Los núcleos de las grageas están provistos de recubrimientos apropiados. Para este propósito, se pueden usar soluciones concentradas de azúcar, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y solventes orgánicos apropiados o mezclas de solventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grageas para identificar o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

55 Las formulaciones farmacéuticas para administración oral pueden incluir cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener los ingredientes activos en mezcla con una carga tal como la lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como el talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos apropiados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosis apropiadas para tal administración.

- En una realización, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía transdérmica, tal como a través de un parche para la piel, o por vía tópica. En un aspecto, las formulaciones transdérmicas o tópicas de la presente invención pueden comprender adicionalmente uno o múltiples potenciadores de la penetración u otros efectores, que incluyen agentes que mejoran la migración del compuesto administrado. Preferiblemente, se puede usar la administración transdérmica o tópica, por ejemplo, en situaciones en las que se desea una administración específica de la ubicación.
- Para la administración por inhalación, los compuestos de la presente invención se pueden administrar convenientemente en forma de una presentación de spray en aerosol a partir de paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propelente apropiado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono, o cualquier otro gas apropiado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación apropiada se puede determinar proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para uso en un inhalador o insufladores. Estos contienen por lo general una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo apropiada tal como lactosa o almidón. Las composiciones formuladas para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua, se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de dosis múltiples, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Las formulaciones para administración parenteral incluyen soluciones acuosas u otras composiciones en forma soluble en agua.
- Las suspensiones de los compuestos activos también se pueden preparar como suspensiones oleosas apropiadas para inyección. Los solventes o vehículos lipófilos apropiados pueden incluir aceites grasos tales como aceite de sésamo y ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como la carboximetilcelulosa de sodio, el sorbitol o el dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes apropiados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo apropiado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes del uso.
- Como se mencionó anteriormente, las composiciones de la presente invención también se pueden formular como una formulación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo, subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. De este modo, por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden formular con materiales polímeros o hidrófobos apropiados (por ejemplo, una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, una sal poco soluble.
- Para cualquier composición usada en los presentes métodos de tratamiento, una dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente usando una variedad de técnicas bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, en base a la información obtenida de un ensayo de cultivo celular, se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración circulante que incluya la IC₅₀. De manera similar, los intervalos de dosis apropiados para sujetos humanos se pueden determinar, por ejemplo, usando datos obtenidos de ensayos de cultivos celulares y otros estudios en animales.
- Una dosis terapéuticamente eficaz de un agente se refiere a la cantidad del agente que produce una mejoría de los síntomas o una prolongación de la supervivencia en un sujeto. La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales moléculas se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, determinando la LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, que se puede expresar como la proporción LD₅₀/ED₅₀. Se prefieren los agentes que presentan altos índices terapéuticos.
- Las dosis preferiblemente se encuentran dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluye la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. Las dosis pueden variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración usada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosis deben elegirse, según métodos bien conocidos en la técnica, en vista de las características específicas de la condición de un sujeto.
- Además, la cantidad de agente o composición administrada dependerá de una variedad de factores, que incluyen la edad, el peso, el sexo, el estado de salud, el grado de enfermedad del sujeto que se está tratando, la gravedad de la aflicción, la manera de la administración, y el juicio del médico prescriptor.
- En lo que sigue, se explica un método de ejemplo para preparar el compuesto de la presente invención.
- Se pueden preparar diversos materiales de partida de acuerdo con métodos sintéticos convencionales bien conocidos en la técnica. Algunos de los materiales de partida están disponibles comercialmente de fabricantes y

proveedores de reactivos, tales como Aldrich, Sigma, TCI, Wako, Kanto, Fluorchem, Acros, Abocado, Alfa, Fluka, etc., pero no se limitan a estos.

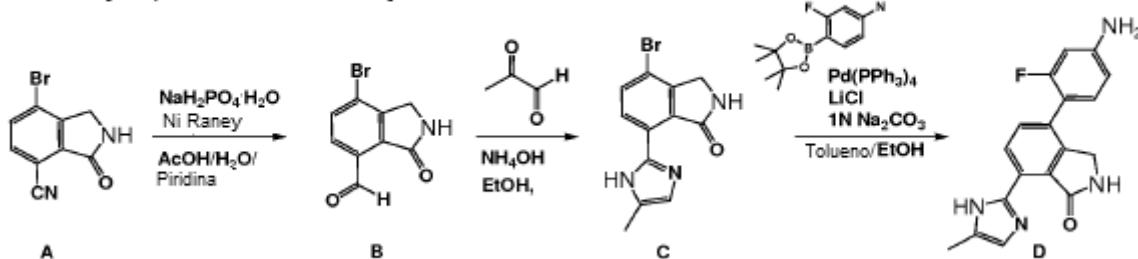
Los compuestos de la presente invención se pueden preparar a partir de materiales de partida fácilmente disponibles mediante los métodos y procedimientos convencionales a continuación. También se pueden usar diferentes métodos para fabricar los compuestos de la invención, a menos que se especifique lo contrario como condiciones de procedimiento típicas o preferidas (esto es, temperatura de reacción, tiempo, relación molar de reactantes, solventes, presiones, etc.). Las condiciones de reacción óptimas pueden variar dependiendo de los reactivos o solventes particulares empleados. Tales condiciones, sin embargo, pueden ser determinadas por los expertos en el arte mediante un procedimiento de optimización convencional.

10 Además, los expertos en el arte reconocen que algunos grupos funcionales se pueden proteger/desproteger usando diversos grupos protectores antes de que tenga lugar una cierta reacción. Las condiciones apropiadas para proteger y/o desproteger un grupo funcional específico, y el uso de grupos protectores son bien conocidos en la técnica.

Por ejemplo, diversos tipos de grupos protectores se describen en T.W. Greene and G.M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Segunda edición, Wiley, Nueva York, 1991, y otras referencias citadas anteriormente.

15 En una realización de la presente descripción, el compuesto de fórmula (I) de la presente invención se puede preparar sintetizando un compuesto intermedio, compuesto D, según el esquema de reacción 1 como se muestra a continuación, y luego sometiendo el compuesto D a través de procedimiento del esquema de reacción 2 o 3. Sin embargo, el método para sintetizar el compuesto D anterior no está limitado al esquema de reacción 1.

[Esquema de reacción 1]



20 El método de preparación del material de partida del esquema de reacción 1, esto es, el compuesto A, se describe en la Publicación de Patente Internacional WO2012/014017, y el compuesto D se prepara mediante los siguientes métodos.

<1-1> Síntesis del compuesto B

25 El compuesto A (40 g, 168 mmol) se dispersó en ácido acético (400 mL), se añadió agua (400 mL) y piridina (800 mL), y luego la temperatura de la mezcla así formada se redujo a 10 °C. A la mezcla se le añadió monohidrato monobásico de fosfato de sodio (280 g, 2.01 mol) y luego se añadió nuevamente Ni Raney (101 g) en agua (70 mL) para formar una solución de reacción. La solución de reacción se calentó a 50 °C, se dejó reaccionar durante 2 horas. Una vez completada la reacción, la solución se enfrió y se filtró. La solución se lavó con acetato de etilo (EA, 2.5 L) y el filtrado se añadió con agua (800 mL) para la extracción. Una capa orgánica formada de este modo se separó y se concentró a presión reducida. Se añadió a esta agua enfriada (800 mL), y un sólido obtenido de este modo se filtró y se secó para obtener el compuesto B (26.7 g, rendimiento: 66%).

Espectro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 11.10(s, 1H), 9.15 (s, 1H), 7.95(d, J=8.1Hz, 1H), 7.78 (d, J=8.1Hz, 1H), 4.41(s, 2H)

LCMS [M+1]: 241.1

35 <1-2> Síntesis del compuesto C

El compuesto B (26.7 g, 111 mmol) se dispersó en etanol (800 mL), y se le añadieron soluciones acuosas de 48% de metil glioal (67 mL) y 28% de amoniaco (75 mL). La solución de reacción así formada se calentó a 90 °C y se agitó, durante 3 horas. Una vez completada la reacción, la solución se concentró a presión reducida para reducir el volumen de la solución de reacción a aproximadamente 200 mL, y se filtró un sólido formado de este modo. El sólido se lavó con etanol (50 mL) para obtener el compuesto C (17.2 g, rendimiento: 53%).

Espectro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 14.21-14.12(m, 1H), 9.48(s, 1H), 8.27(d, J=8.4Hz, 1H), 7.83(d, J=8.4Hz, 1H), 7.07-6.82(m, 1H), 4.39(s, 2H), 2.27-2.18(m, 3H)

LCMS [M+1]: 293.1

<1-3> Síntesis del compuesto D

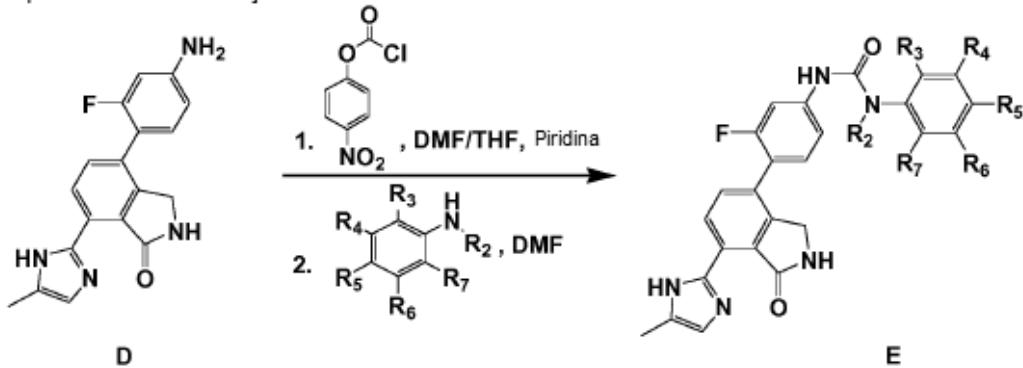
El compuesto C (17.2 g, 58.9 mmol), 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenilamina (19.5 g, 82 mmol), LiCl (6.9 g, 165 mmol) y Pd(PPh_3)₄ (6.8 g, 5.9 mmol) se dispersaron en una solución mixta de tolueno (589 mL) y etanol (589 mL), se añadieron con una solución acuosa de Na₂CO₃ 1 N (117 mL) y se dejó reaccionar a 85 °C, durante 12 horas. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se concentró completamente a presión reducida. Se añadió una solución mixta de acetona (1.2 L) y acetonitrilo (1.2 L), y la solución de reacción se agitó, durante 2 horas a 80 °C, se enfrió, se filtró y luego se lavó con acetonitrilo (0.5 L). La solución filtrada se concentró a presión reducida para reducir el volumen de la solución de reacción a aproximadamente 150 mL, y luego se filtró. Un sólido obtenido de este modo se lavó a presión reducida con acetonitrilo (60 mL), n-hexano (100 mL) y agua (100 mL), respectivamente, y se secó para producir el compuesto D, 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (13.31 g, rendimiento: 70%).

Especro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): 14.44-14.34(m, 1H), 9.36(s, 1H), 8.36(d, J=8.4Hz, 1H), 7.51(d, J=7.8Hz, 1H), 7.16(t, J=8.7Hz, 1H), 7.04-6.79(m, 1H), 6.49-6.42(m, 2H), 5.65(s, 2H), 4.36(s, 2H), 2.28-2.18(m, 3H)

LCMS [M+1]: 323.3

Para preparar diversos compuestos que se pueden representar por la fórmula (I) de la presente invención, un método para sintetizar tales compuestos usando el compuesto D intermedio se describe específicamente en los esquemas de reacción 2 y 3 a continuación. Sin embargo, este es un ejemplo representativo de la preparación del compuesto de fórmula (I) usando el compuesto D intermedio, y por lo tanto, el método de preparación del compuesto de fórmula (I) no se limita a esto.

[Esquema de reacción 2]



20

El compuesto E descrito en el esquema de reacción 2 se preparó mediante los siguientes métodos.

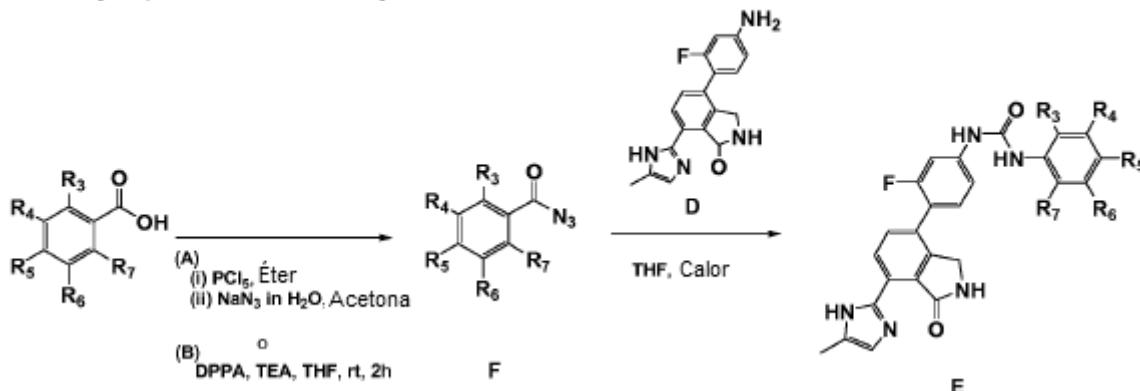
<2-1> Síntesis del compuesto E según el esquema de reacción 2

4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 1 equivalente) se dispersó en DMF/THF (1:4) para formar una solución (0.08 m) y luego se añadieron a esta piridina (1.15 equivalentes) y carbono cloruro de 4-nitrofenilo (1.15 equivalentes), seguido de agitación durante 4 horas. Una vez que la reacción llegó a completarse (TLC), se añadió a esta n-hexano (el mismo volumen que THF, la solución de reacción), seguido de agitación durante 30 minutos. Un sólido formado de este modo se lavó con un solvente mixto de n-hexano: THF = 1: 1 (cuatro veces el volumen de THF, solución de reacción), se filtró y luego se secó. El compuesto seco se dispersó en DMF para formar una solución (0.1 m), se añadió fenilamina sustituida (6 a 15 equivalentes) y luego se agitó durante 20 minutos en condiciones de microondas (250 W, 250 psi, 150 °C). La solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro (MgSO₄) y luego se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto E.

30

El compuesto E obtenido en el esquema de reacción 2 también se puede sintetizar por el esquema de reacción 3 a continuación.

[Esquema de reacción 3]



<3-1> (A) Síntesis del compuesto E según el esquema de reacción 3

El ácido benzoico sustituido (2 equivalentes) se dispersó en éter dietílico para formar una mezcla (0.08 m), se añadió pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 2.2 equivalentes) y luego se agitó durante 2 horas. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó (0.08 m) añadiendo acetona al reactivo. Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota azida de sodio (NaN_3 , 2.4 equivalentes) en agua (1/12 volúmenes de acetona) a 0 °C. Después de agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, el reactivo se diluyó con acetato de etilo y luego con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico (MgSO_4), se dispersó en THF para formar una solución (0.04 m), se añadió 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 1 equivalente) y se agitó, durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto E.

El compuesto E sintetizado en el esquema de reacción 2 anterior también se puede sintetizar usando otro método según el esquema de reacción 3.

<3-2> (B) Síntesis del compuesto E según el esquema de reacción 3

Se dispersó el ácido benzoico sustituido (2 equivalentes) en THF para formar una solución (0.05 m), y luego se añadieron trietilamina (4 equivalentes) y difenilfosforazido (DPPA, 2.3 equivalentes), seguido de agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se añadió 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 1 equivalente), y luego se agitó durante 4 horas a 90 °C. Posteriormente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y se lavó con agua y una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto E.

En lo que sigue, la presente invención se describe más específicamente mediante los siguientes ejemplos, pero estos se proporcionan solo con fines ilustrativos, y la presente invención no se limita a los mismos.

Ejemplo 1: Preparación de 1-(2,6-dicloro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

El 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.1 g, 0.31 mmol) se dispersó en DMF (0.8 mL) y THF (3.4 mL), se añadió piridina (0.03 mL) y carbonocloridato de 4-nitrofenilo (0.07 g, 0.36 mmol) y luego se agitó durante 4 horas. Después de confirmar la finalización de la reacción mediante TLC, se añadió a esta n-hexano (3 mL) y se agitó, durante 30 minutos. Un sólido formado de este modo se lavó con un solvente mixto de n-hexano: THF = 1: 1 (12 mL), se filtró y luego se secó. El compuesto seco se dispersó en DMF (3 mL), se añadió 2,6-dicloroanilina (0.34 g, 2.08 mmol) y luego se agitó durante 20 minutos en condiciones de microondas (250 W, 250 psi, 150 °C). La solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó secuencialmente con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.03 g, rendimiento: 19%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 9.54(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.58(s, 1H), 8.43(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.59(m, 3H), 7.47(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.32(m, 2H), 7.08(s, 1H), 4.41(s, 2H), 2.25 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 511

Ejemplo de referencia 2: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-trifluorometil-fenil)-urea

Se dispersó el 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.1 g, 0.31 mmol) en DMF (0.8 mL) y THF (3.4 mL), se añadió piridina (0.03 mL) y carbonocloridato de 4-nitrofenilo (0.07 g, 0.36 mmol) y luego se agitó durante 4 horas. Posteriormente, se añadió n-hexano (3 mL) a la mezcla y se agitó, durante 30 minutos. Un sólido formado de este modo se lavó con una solución mixta de n-hexano: THF = 1: 1 (12 mL), se filtró y luego se secó. El compuesto seco se dispersó en DMF (2 mL), se añadió 2-trifluorometil anilina (0.74 g, 4.65 mmol) y luego se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se añadió secuencialmente con metanol (6 mL) y una solución acuosa saturada de NaHCO₃, y se agitó, durante 30 minutos. Un sólido formado de este modo se filtró y se lavó con agua. Despues de secar el sólido lavado, el sólido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.07 g, rendimiento: 44%).

Espectro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 9.54(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.58(s, 1H), 8.43(d, J=8.1Hz, 1H), 7.59(m, 3H), 7.47(t, J=8.4Hz, 1H), 7.32(m, 2H), 7.08(s, 1H), 4.41(s, 2H), 2.25 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 510.0

Ejemplo 3: Preparación de 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 2,6-difluorobenzoico (0.04 g, 0.248 mmol) en éter dietílico (3 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl₅, 0.057 g, 0.273 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (2 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN₃, 0.019 g, 0.298 mmol) disuelta en agua (0.2 mL). Despues de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la 2,6-difluoro-benzoyl azida formada de este modo se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL), se añadió THF (4 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.04 g, 0.124 mmol) y luego se agitó durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.025 g, rendimiento: 42%).

Espectro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 14.45-14.36(m, 1H), 9.40-9.36(m, 2H), 8.42(d, J=8.1Hz, 1H), 8.33(s, 1H), 7.62-7.57(m, 2H), 7.48(t, J=8.4Hz, 1H), 7.37-7.26(m, 2H), 7.20-6.82(m, 3H), 4.40(s, 2H), 2.29-2.19(m, 3H)

LCMS [M+1]: 478.4

Ejemplo 4: Preparación de 1-(2-cloro-6-fluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 2-cloro-6-fluorobenzoico (0.054 g, 0.31 mmol) en éter dietílico (3 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl₅, 0.074 g, 0.357 mmol), y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (2 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN₃, 0.024 g, 0.372 mmol) disuelta en agua (0.2 mL). Despues de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL), se añadió THF (4 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.05 g, 0.155 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.029 g, rendimiento 42%).

Espectro ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 14.45-14.35(m, 1H), 9.40-9.35(m, 2H), 8.42(d, J=8.1Hz, 1H), 8.33(s, 1H), 7.63-7.58(m, 2H), 7.47(t, J=8.4Hz, 1H), 7.41-7.26(m, 4H), 7.07-6.82(m, 1H), 4.40(s, 2H), 2.30-2.20(m, 3H)

LCMS [M+1]: 494.4

Ejemplo 5: Preparación de 1-(2,6-bis-trifluorometil-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 2,6-bis-trifluorometilbenzoico (0.088 g, 0.31 mmol) en éter dietílico (3 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl₅, 0.068 g, 0.362 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (2 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN₃, 0.024 g, 0.372 mmol) disuelta en agua (0.2 mL). Despues de

agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la 2,6-bis-trifluorometilbenzoil azida formada de este modo se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL), se añadió THF (4 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.05 g, 0.155 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C.

5 Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metíleno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.018 g, rendimiento: 20%).

10 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 8.40(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.09-8.06(m, 2H), 7.76(t, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.63(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.54(d, $J=12.9\text{Hz}$, 1H), 7.38(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.24(d/d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.94(s, 1H), 4.43(s, 2H), 2.33(s, 3H)

LCMS [M+1]: 578.4

Ejemplo 6: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-fluoro-6-trifluorometil-fenil)-urea

15 Se dispersó el ácido 2-fluoro-6-trifluorometilbenzoico (0.058 g, 0.279 mmol) en éter dietílico (3 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.064 g, 0.307 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (2 mL). Posteriormente, se añadió lentamente azida de sodio (NaN_3 , 0.024 g, 0.363 mmol) disuelta en agua (0.2 mL) a la solución de reacción gota a gota a 0 °C. Despues de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL) y luego se introdujo en un matraz que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.045 g, 0.14 mmol) diluido en THF (4 mL), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (cloruro de metíleno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.023 g, rendimiento: 32%).

20 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 8.41-8.39(m, 1H), 7.64-7.50(m, 5H), 7.39(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.25(m, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.94(s, 1H), 4.43(s, 2H), 2.33(s, 3H)

LCMS [M+1]: 528.4

25 Ejemplo 7: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,4,6-trifluoro-fenil)-urea

30 Se dispersó el ácido 2,4,6-trifluorobenzoico (0.08 g, 0.45 mmol) en éter dietílico (5.7 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.11 g, 0.52 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3.8 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN_3 , 0.035 g, 0.545 mmol) disuelta en agua (0.28 mL). Despues de agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, la 2,4,6-trifluorobenzoil azida formada de este modo se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (2 mL), se añadió THF (7.5 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.073 g, 0.23 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metíleno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.026 g, rendimiento: 23%).

40 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.46-14.37 (m 1H), 9.47-9.45 (br m, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.45 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 8.30-8.27 (br m, 1H), 7.63-7.46(m, 3H), 7.31-7.26 (m, 3H), 7.09-6.84 (m, 1H), 4.42 (s, 2H), 2.31-2.21 (m, 3H)

45 LCMS [M+1]: 496.3

50 Ejemplo 8: Preparación de 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-1-metil-urea

55 Se dispersó el 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.1 g, 0.31 mmol) en una solución mixta de DMF (0.8 mL) y THF (4 mL), y luego se añadieron piridina (0.05 mL) y carbonocloridato de 4-nitrofenilo (0.07 g, 0.36 mmol), seguido de agitación durante 4 horas. Una vez completada la reacción, se añadió n-hexano (3 mL) a la mezcla resultante, seguido de agitación durante 30 minutos. Un sólido formado de este modo se lavó con un solvente mixto de n-hexano: THF = 1:1 (12 mL), se filtró y luego se secó. El compuesto seco se dispersó en DMF (4 mL), se añadió 2,6-difluoro-metilanilina (0.294 g, 2.05 mmol) y luego se agitó durante 12 horas a 100 °C. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró. Finalmente, la capa orgánica se purificó mediante

cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.018 g, rendimiento: 18%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.45-14.36(m, 1H), 9.36(s, 1H), 8.91(s, 1H), 8.42(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.61-7.34(m, 5H), 7.26-7.21(m, 2H), 7.07-6.82(m, 1H), 4.40(s, 2H), 3.20(s, 3H), 2.30-2.20(m, 3H)

5 LCMS [M+1]: 492.4

Ejemplo 9: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-pentafluorofenil-urea

10 Se dispersó el ácido pentafluorobenzoico (0.066 g, 0.31 mmol) en éter dietílico (3 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.071 g, 0.341 mmol) y luego se agitó durante 40 minutos. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN_3 , 0.026 g, 0.403 mmol) disuelta en agua (0.2 mL). Despues de agitar la solución de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL) y luego se introdujo en un matraz que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.050 g, 0.155 mmol) diluido en THF (3 mL), seguido de agitación durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.023 g, rendimiento: 28%).

20 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.45-14.36(m, 1H), 9.60(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.83(br s, 1H), 8.43(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.62-7.57(m, 2H), 7.50(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.30(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.08-6.83(m, 1H), 4.40(s, 2H), 2.30-2.20(m, 3H)

LCMS [M+1]: 532.4

25 Ejemplo 10: Preparación de 1-(2,5-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisooindolin-4-il)fenil)urea

30 Se dispersó el ácido 2,5-difluorobenzoico (0.05 g, 0.32 mmol) en THF (4 mL) y luego se le añadieron trietilamina (0.088 ml, 0.63 mmol) y difenilfosforazidato (DPPA, 0.08 ml, 0.36 mmol), seguido de agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Despues de verificar que se formó 2,5-difluorobenzoyl azida, se añadió el compuesto D (0.051 g, 0.16 mmol), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . Posteriormente, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno: metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.026 g, rendimiento: 34%).

35 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.47-14.37 (m, 1H), 9.58 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.45 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.06-7.99 (m, 1H), 7.67-7.49 (m, 3H), 7.36-7.09 (m, 2H), 6.89-6.84 (m, 1H), 4.43 (s, 2H), 2.31-2.22 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 478.4

40 Ejemplo 11: Preparación de 1-(2,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

45 Se dispersó el ácido 2,4-difluorobenzoico (0.04 g, 0.248 mmol) en THF (3 mL) y luego se añadieron trietilamina (0.069 ml, 0.496 mmol) y difenilfosforazidato (DPPA, 0.075 g, 0.273 mmol), seguido de agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.040 g, 0.124 mmol) a la mezcla, seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con agua y una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . Posteriormente, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.024 g, rendimiento: 42%).

50 Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.45-14.36(m, 1H), 9.39-9.35(m, 2H), 8.64(s, 1H), 8.43(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 8.09-8.00(m, 1H), 7.65-7.59(m, 2H), 7.49(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.35-7.21(m, 2H), 7.08-6.83(m, 2H), 4.41(s, 2H), 2.30-2.20(m, 3H)

LCMS [M+1]: 478.4

Ejemplo 12: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,6-trifluoro-fenil)-urea

Se dispersó el ácido 2,3,6-trifluorobenzoico (0.044 g, 0.248 mmol) en éter dietílico (4 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.057 g, 0.273 mmol) y luego se agitó durante 40 minutos. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN_3 , 0.021 g, 0.322 mmol) en agua (0.2 mL). Despues de agitar la solución de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL) y luego se introdujo en un matraz que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.040 g, 0.124 mmol) diluido en THF (3 mL), seguido de agitación durante 6 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.022 g, rendimiento: 36%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 14.45-14.35(m, 1H), 9.51(br s, 1H), 9.35(s, 1H), 8.62(br s, 1H), 8.43(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.62-7.57(m, 2H), 7.48(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.44-7.34(m, 1H), 7.31-7.20(m, 2H), 7.07-6.83(m, 1H), 4.40(s, 2H), 2.30-2.20(m, 3H)

LCMS [M+1]: 496.4

Ejemplo 13: Preparación de 1-(3,5-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 3,5-difluorobenzoico (0.04 g, 0.248 mmol) en THF (4 mL) y luego se añadieron a esta trietilamina (0.069 mL, 0.496 mmol) y difenilfosforazidato (DPPA, 0.075 g, 0.273 mmol), seguido de agitación durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.040 g, 0.124 mmol) a la solución de reacción, seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. La solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua y una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno: metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.032 g, rendimiento: 55%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 14.45-14.36(m, 1H), 9.50(s, 2H), 9.36(s, 1H), 8.43(d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.64-7.60(m, 2H), 7.50(t, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.30-7.20(m, 3H), 7.08-6.77(m, 2H), 4.41(s, 2H), 2.30-2.20(m, 3H)

LCMS [M+1]: 478.3

Ejemplo 14: Preparación de 1-(3,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 3,4-difluorobenzoico (0.05 g, 0.32 mmol) en THF (4 mL) y luego se añadieron a este trietilamina (0.088 mL, 0.63 mmol) y difenilfosforazidato (DPPA, 0.08 mL, 0.36 mmol), seguido de agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Despues de verificar que se formó 3,4-difluorobenzoil azida, se añadió 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.051 g, 0.16 mmol), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . Posteriormente, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.035 g, rendimiento: 46%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 14.40 (br s, 1H), 9.37 (s, 1H), 9.13-9.03 (m, 2H), 8.44 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.71-7.47 (m, 4H), 7.41-7.27 (m, 3H), 7.18-7.16 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 4.43 (s, 2H), 2.26 (s, 3H)

LCMS [M+1]: 478.4

Ejemplo 15: Preparación de 1-(4-ciano-3-fluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea

Se dispersó el ácido 4-ciano-3-fluorobenzoico (0.08 g, 0.48 mmol) en THF (6.1 mL), se añadió trietilamina (0.14 mL, 0.97 mmol) y difosilfosforazidato (DPPA, 0.12 mL, 0.56 mmol) y luego se agitó, durante 2 horas a temperatura ambiente. Despues de verificar que se formó 4-ciano-3-fluorobenzoil azida, se añadió a este 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.078 g, 0.24 mmol), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . Posteriormente, la capa

orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.012 g, rendimiento: 10%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.40 (br s, 1H), 9.89 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.44 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.94-7.15 (m, 7H), 7.01-6.99 (m, 1H), 4.43 (s, 2H), 2.26 (s, 3H)

LCMS [M+1]: 485.4

Ejemplo 16: Preparación de 1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisooindolin-4-il)fenil)urea

Se dispersó el ácido 4-cloro-3-trifluorometilbenzoico (0.08 g, 0.35 mmol) en THF (4.5 mL) y luego se añadieron a esta trietilamina (0.1 ml, 0.71 mmol) y difenilfosforazidato (DPPA, 0.09 ml, 0.41 mmol), seguido de agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de verificar que se formó 4-cloro-3-trifluorometilbenzoil azida, se añadió a este 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.057 g, 0.18 mmol), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo que contenía metanol al 5% y luego se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃.

Posteriormente, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El concentrado obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.012 g, rendimiento: 12%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.47-14.37 (m, 1H), 9.36-9.32 (m, 2H), 9.25 (s, 1H), 8.45 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 8.12-8.05 (m, 1H), 7.71-7.61 (m, 4H), 7.54-7.48 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.09-6.85 (m, 1H), 4.42 (s, 2H), 2.32-2.22 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 544.3

Ejemplo 17: Preparación de 1-(3-cloro-2,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisooindolin-4-il)fenil)urea

Se dispersó el ácido 3-cloro-2,6-difluorobenzoico (0.08 g, 0.41 mmol) en éter dietílico (5.2 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl₅, 0.099 g, 0.48 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3.5 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN₃, 0.032 g, 0.50 mmol) disuelta en agua (0.25 mL). Después de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la 3-cloro-2,6-difluorobenzoil azida formada de este modo se diluyó con acetato de etilo, seguido de lavado con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1.6 mL) y se añadió THF (1.6 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.067 g, 0.21 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.017 g, rendimiento: 16%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.47-14.38 (m, 1H), 9.49-9.39 (m, 2H), 8.53 (s, 1H), 8.44 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.63-7.47 (m, 4H), 7.31-7.24 (m, 2H), 7.09-6.84 (m, 1H), 4.42 (s, 2H), 2.31-2.21 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 512.3

Ejemplo 18: Preparación de 1-(2-cloro-3,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisooindolin-4-il)fenil)urea

Se dispersó el ácido 2-cloro-3,6-difluorobenzoico (0.08 g, 0.41 mmol) en éter dietílico (5.2 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl₅, 0.099 g, 0.48 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3.5 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN₃, 0.032 g, 0.50 mmol) disuelta en agua (0.25 mL). Después de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, la 2-cloro-3,6-difluorobenzoil azida formada de este modo se diluyó con acetato de etilo, seguido de lavado con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1.6 mL), se añadió THF (7 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.067 g, 0.21 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.038 g, rendimiento: 36%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 14.46-14.37 (m, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.44 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.52-7.29 (m, 4H), 7.09-6.84 (m, 1H), 4.42 (s, 2H), 2.31-2.21 (m, 3H)

LCMS [M+1]: 512.3

Ejemplo 19: Preparación de 1-(4-cloro-2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea

Se dispersó el ácido 4-cloro-2,6-difluorobenzoico (0.060 g, 0.31 mmol) en éter dietílico (4 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.071 g, 0.341 mmol) y luego se agitó durante 40 minutos. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN_3 , 0.026 g, 0.403 mmol) disuelta en agua (0.2 mL). Después de agitar la solución de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente, la solución de reacción se diluyó con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1 mL) y luego se introdujo en un matraz que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.050 g, 0.155 mmol) disuelto en THF (3 mL), seguido de agitación durante 4 horas a 90 °C.

Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.024 g, rendimiento: 30%).

Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 14.46-14.37 (m, 1H), 9.86(s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.41 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.52-7.29 (m, 4H), 6.97(s, 1H), 4.42 (s, 2H), 2.21 (s, 3H)

LCMS [M+1]: 512.3

Ejemplo 20: Preparación de 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenil)-urea

Se diluyó ácido 2,3,5,6-tetrafluorobenzoico (0.08 g, 0.41 mmol) en éter dietílico (5.2 mL), se añadió lentamente pentacloruro de fósforo (PCl_5 , 0.099 g, 0.48 mmol) y luego se agitó durante 1 hora. Una vez completada la reacción, el solvente orgánico se concentró a presión reducida por debajo de la temperatura ambiente, y luego la solución de reacción se diluyó añadiendo acetona (3.4 mL). Posteriormente, se añadió lentamente a la solución de reacción gota a gota a 0 °C azida de sodio (NaN_3 , 0.032 g, 0.50 mmol) disuelta en agua (0.25 mL). Después de agitar la solución de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente, se diluyó la 2,3,5,6-tetrafluorobenzoil azida formada de este modo con acetato de etilo y luego se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se dispersó en THF (1.6 mL), se añadió THF (7 mL) que contenía 4-(4-amino-2-fluorofenil)-7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)isoindolin-1-ona (compuesto D, 0.066 g, 0.21 mmol), y luego se agitó durante 3 horas a 90 °C. Una vez completada la reacción, el solvente se concentró a presión reducida y luego se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: cloruro de metileno:metanol = 20:1) para obtener el compuesto base (0.014 g, rendimiento: 13%)

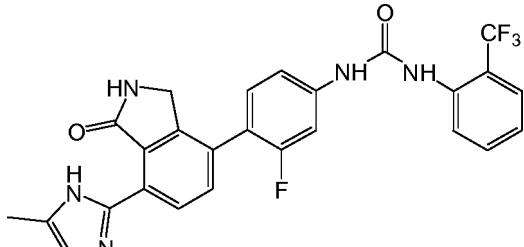
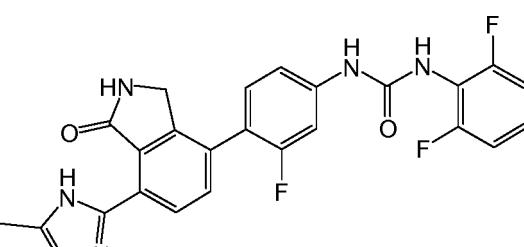
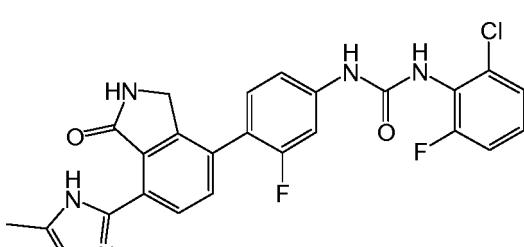
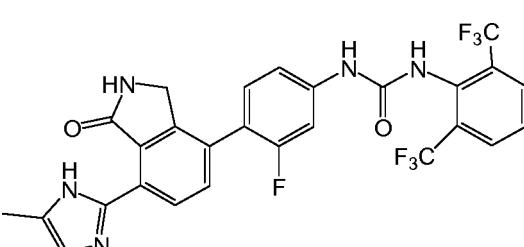
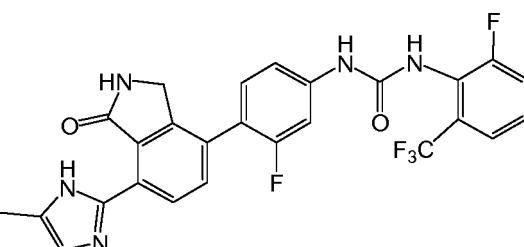
Espectro ^1H -RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 8.45 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 7.69-7.61 (m, 2H), 7.48-7.33 (m, 3H), 7.00 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 2.38 (s, 3H)

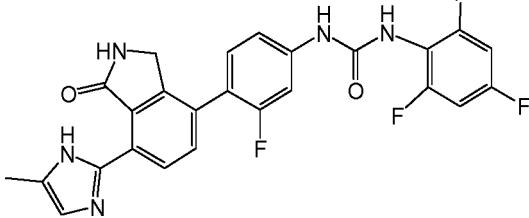
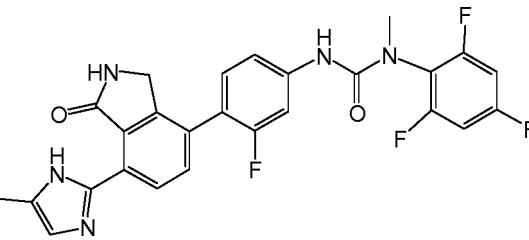
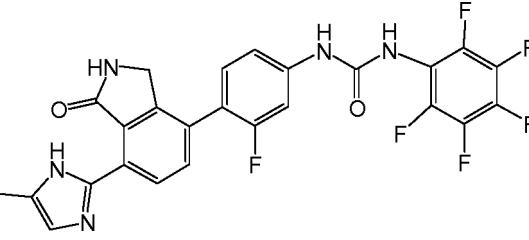
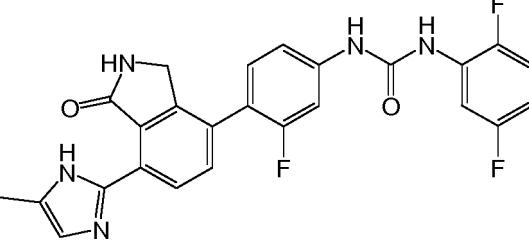
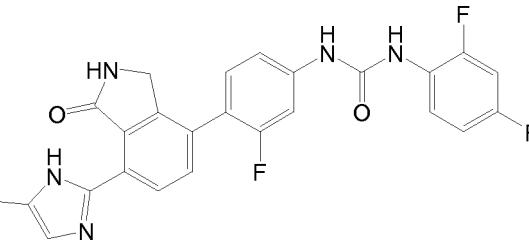
LCMS [M+1]: 514.3

Los compuestos obtenidos en el ejemplo 1, ejemplo de referencia, 2, y los ejemplos 3 a 20 están representados por la siguiente fórmula estructural, como se muestra en la tabla 1 a continuación.

[Tabla 1]

Compuesto	Nombre	Fórmula
1	1-(2,6-dicloro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	

2	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-trifluorometil-fenil)-urea	
3	1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
4	1-(2-cloro-6-fluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
5	1-(2,6-bis-trifluorometil-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
6	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-fluoro-6-trifluorometil-fenil)-urea	

7	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,4,6-trifluoro-fenil)-urea	
8	1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5- metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-1- metil-urea	
9	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-pentafluorofenil-urea	
10	1-(2,5-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5- metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin- 4-il)fenil)urea	
11	1-(2,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5- metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	

12	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,6-trifluoro-fenil)-urea	
13	1-(3,5-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
14	1-(3,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
15	1-(4-ciano-3-fluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea	
16	1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea	
17	1-(3-cloro-2,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea	

18	1-(2-cloro-3,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisoindolin-4-il)fenil)urea	
19	1-(4-cloro-2,6-difluorofenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea	
20	1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenil)urea	

Los compuestos preparados a partir de ejemplos se ensayaron para ensayos biológicos de la siguiente manera.

La evaluación de las actividades biológicas de los compuestos de acuerdo con la presente invención se puede llevar a cabo mediante cualquier método convencional conocido en la técnica. Los métodos de ensayo apropiados son bien conocidos en la técnica. Las siguientes pruebas son ejemplos de los efectos de ensayo de los compuestos de la invención en diversas quinasas, que no se limitan a esto. Los compuestos de la presente invención muestran sus actividades en al menos uno de los siguientes ensayos.

Ejemplo experimental 1: ensayo para la actividad de inhibición de BTK (método ELISA)

Para evaluar la actividad de los compuestos de la presente invención como un inhibidor de BTK, se usó BTK (Promega) disponible comercialmente para este experimento. Específicamente, se realizó una reacción enzimática mezclando 0.4 nM de enzima BTK, 40 μ M de péptido sustrato de biotina-SI y 50 μ M de ATP en una solución reguladora de reacción (Tris-HCl 15 mM (pH 7.5), MgCl₂ 20 mM, MnCl₂ 2 mM, DTT 2 mM, 0.1 mg/ml de BSA). La mezcla se trató con los compuestos de ensayo a concentraciones predeterminadas y se dejó reaccionar durante 20 minutos a 30 °C. Una vez completada la reacción, las actividades de los compuestos de ensayo se midieron mediante el método ELISA. El valor de absorbancia de una muestra no tratada se usó como control (control del 100%). Las actividades de la enzima BTK se midieron después del tratamiento con diversas concentraciones de los compuestos de ensayo, y la concentración de los compuestos de ensayo que dio como resultado una inhibición del 50% de la enzima BTK en comparación con el control se determinó como IC₅₀ del inhibidor de BTK.

Las actividades de inhibición de BTK de varios compuestos entre los compuestos de la invención se ensayaron aleatoriamente. Los resultados se muestran en la tabla 2 a continuación.

[Tabla 2] Resultados de las actividades de inhibición de BTK de compuestos representativos

Compuesto	BTK IC ₅₀ (nM)
3	1.00

4	0.90
7	0.10
9	0.40
12	0.28
14	5.60
15	5.00
17	0.05
18	0.07
19	4.00
20	0.90

Ejemplo experimental 2: ensayo de liberación de histamina

Según Kawakami et al., la inhibición de la actividad de BTK en mastocitos reduce la producción de un mediador (por ejemplo, histamina) y un mediador de lípidos, o secreción de citocina. (Referencia [J Immunol. 2000 Aug 1;165(3):1210-9. Redundant and opposing functions of two tyrosine kinases, Btk and Lyn, in mast cell activation. Kawakami Y, Kitaura J, Satterthwaite AB, Kato RM, Asai K, Hartman SE, Maeda-Yamamoto M, Lowell CA, Rawlings DJ, Witte ON, Kawakami T].)

5 Los ensayos de liberación de histamina se realizaron con referencia al método descrito en el artículo, FEBS Lett. 2002 Sep 11;527(1-3):274-8. Silenciamiento de la tirosina quinasa de Bruton (Btk) mediante dúplex cortos de ARN interferentes (ARNip). Heinonen JE, Smith CI, Nore BF y la cantidad de histamina se midió mediante un
10 inmunoensayo enzimático.

10 La línea celular RBL-2H3, adquirida en KCLB (Korean Cell Line Bank), se cultivó en un medio DMEM suplementado con FBS al 10% (v/v) a 37 °C en una incubadora con CO₂ al 5% durante 72 horas. Las células se transfirieron a placas de 96 pocillos a una densidad de 10,000 células/pocillo y se cultivaron a 37 °C en una incubadora con CO₂ al 15
15 5% durante 24 horas.

15 Las células se trataron con 500 ng/mL de anti-DNP monoclonal (sigma) y cada uno de 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 y 10 µM del compuesto de prueba en dimetilsulfóxido al 100% (v/v) (DMSO). Las células se trataron solo con DMSO al 100% (v/v), que se usó como control. Las muestras tratadas se cultivaron a 37 °C en la incubadora con CO₂ al 5% durante 24 horas. Luego, la liberación de histamina se midió según las instrucciones del fabricante (kit de histamina EIA, 20 immunotech). Cada pocillo se trató con 50 µL de una solución reguladora de liberación de histamina y se dejó reaccionar durante 30 minutos a 37 °C. Una vez completada la reacción, se transfirieron 100 µL de una muestra de cada pocillo a una nueva placa, y luego se mezclaron completamente con 25 µL de una solución reguladora de acetilación y 25 µL de un reactivo de acetilación. Se transfirieron 50 µL de la muestra de acetilación preparada de este modo a una placa recubierta con un anticuerpo, se mezclaron con 200 µL de conjugado de histamina fosfatasa alcalina y luego se dejó reaccionar durante 18 horas a 4 °C. Una vez que se completa la reacción, se retira la muestra de la placa y luego se agregan 200 µL de una solución reguladora de lavado para lavar tres veces. Se añadieron 200 µL de un sustrato y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se terminó añadiendo 50 µL de una solución de parada y se leyó la absorbancia de las muestras a 406 nm usando Benchmark Plus (Biorad). El nivel de liberación de histamina se calculó en función de la absorbancia del grupo de prueba frente a la del grupo de control. Los valores de EC₅₀ (µM), en los que los compuestos de ensayo reducen la liberación de histamina en un 50%, se determinaron usando el programa gráfico de Microsoft Excel.

25 Con el fin de evaluar las eficacias de los compuestos de la invención como un fármaco antiinflamatorio, se realizaron aleatoriamente pruebas de liberación de histamina de varios compuestos entre ellos. Los valores de EC₅₀ de los compuestos se resumen en la tabla 3. Los resultados indican que los compuestos obtenidos en los ejemplos según la presente invención tienen una eficacia excelente.

30 [Tabla 3] Resultados de la prueba de liberación de histamina de compuestos representativos

Compuesto	Liberación de histamina EC ₅₀ (μM)
3	0.45
4	0.25
7	0.22
9	0.35
12	0.30
14	0.20
15	0.22
17	0.04
18	0.30
19	0.30
20	0.30

Ejemplo experimental 3: ensayo MTS basado en ensayo antiproliferación

- Se realizó un ensayo de MTS para evaluar las actividades antiproliferativas de los compuestos de la invención a través de la inhibición de la quinasa regulada por señal extracelular (Barltrop, JA et al., (1991) 5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4, 5-dimetiltiazol)-3-(4-sulfofenil) tetrazolio, sal interna (MTS) y análogo relacionado de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazolil)-2,5,-difeniltetrazolio (MTT) reduciendo a formazanos solubles en agua púrpura como indicadores de viabilidad celular. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1, 611-4; Cory, A.H. et al., (1991) Uso de un ensayo de terrazolio/formazán soluble en agua para los ensayos de crecimiento celular en cultivo. Cancer Comm. 3, 207-12).
- 5 Líneas celulares de linfoma humano Jeko-1 (ATCC), Mino (ATCC), H9 (Korean Cell Line Bank) y SR (ATCC), y líneas celulares de leucemia humana MV4-11 (ATCC), Molm-13 (DSMZ) y Ku812 (ATCC) se usaron para la prueba según el procedimiento que se muestra a continuación.
- 10 Cada una de las células Jeko-1, Mino, H9, SR, MV4-11, Molm-13 y Ku812 se transfirieron a placas de 96 pocillos que contenían medio RPMI1640 (GIBCO, Invitrogen) suplementado con FBS al 10% a una densidad de 10,000 células/pocillo, y luego se incubaron durante 24 horas en condiciones de 37 °C y CO₂ al 5%. Los pocillos se trataron con cada uno de 0.2, 1, 5, 25 y 100 μM, de los compuestos de ensayo. El pocillo se trató con DMSO en una cantidad de 0.08% en peso, que es la misma cantidad que en los compuestos de ensayo, que se usó como control. Las células resultantes se incubaron durante 48 horas.
- 15 Los ensayos de MTS están disponibles comercialmente e incluyen el ensayo de proliferación celular no radiactiva acuosa Promega CellTiter 96®. Se realizaron ensayos de MTS para evaluar la viabilidad celular de los compuestos de ensayo. Se añadieron 20 μL de una solución mixta de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5- (3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio, sal interna ("MTS") y fenazina metosulfato (PMS) a cada pocillo y luego se incubó durante 2 horas a 37 °C. Luego se leyó la absorbancia de las muestras a 490 nm. El nivel de actividad antiproliferación se calculó basándose en la absorbancia de los compuestos de ensayo frente a la del grupo de control no tratado. Se calcularon los valores de EC₅₀ (μM), en los cuales los compuestos de ensayo reducen el crecimiento de las células cancerosas en un 50%.
- 20 Se llevó a cabo un ensayo para determinar la actividad antiproliferativa usando células de linfoma Jeko-1, Mino, H9 y SR para evaluar la eficacia de los compuestos de la invención como agente antiinflamatorio así como agente contra el cáncer. Los valores de EC₅₀ de los mismos se muestran en la tabla 4 a continuación.
- 25 [Tabla 4] Ensayo antiproliferación de los compuestos representativos contra células de linfoma

Compuesto	EC ₅₀ en Jeko-1	EC ₅₀ en Mino	EC ₅₀ en H9	EC ₅₀ en SR
-----------	----------------------------	--------------------------	------------------------	------------------------

ES 2 696 700 T3

	(μM)	(μM)	(μM)	(μM)
3	0.10	-	0.03	0.100
4	0.10	-	0.03	0.030
7	0.03	0.018	0.007	0.015
9	0.03	-	0.006	0.018
12	0.15	-	0.04	0.020
14	0.03	-	0.02	0.018
15	0.10	-	0.19	0.150
17	0.03	0.018	0.02	0.025
18	0.03	-	0.02	0.020
19	0.03	-	0.04	0.020
20	0.03	-	0.01	0.017

Además, algunos compuestos de la invención que han exhibido excelentes efficacias contra células de linfoma se sometieron adicionalmente a un ensayo de antiproliferación contra células de leucemia para confirmar sus excelentes efficacias. Los valores de EC₅₀ de los mismos se muestran en la tabla 5 a continuación.

5 [Tabla 5] Ensayo de antiproliferación de los compuestos representativos contra las células de leucemia

Compuesto	EC ₅₀ en MV4-11 (μM)	EC ₅₀ en Molm-13 (μM)	EC ₅₀ en Ku812 (μM)
7	0.002	0.003	0.600
17	0.004	0.012	0.190

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

1) 1-(2,6-dicloro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

3) 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

5) 4) 1-(2-cloro-6-fluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

5) 1-(2,6-bis-trifluorometil-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

6) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2-fluoro-6-trifluorometil-fenil)-urea;

10) 7) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,4,6-trifluorofenil)-urea;

8) 1-(2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-1-metil-urea;

9) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-pentafluorofenil-urea;

10) 10) 1-(2,5-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea;

11) 1-(2,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

15) 12) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,6-trifluorofenil)-urea;

13) 1-(3,5-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

14) 1-(3,4-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea;

15) 15) 1-(4-ciano-3-fluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea;

16) 16) 1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea;

20) 17) 1-(3-cloro-2,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea;

18) 18) 1-(2-cloro-3,6-difluorofenil)-3-(3-fluoro-4-(7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxoisindolin-4-il)fenil)urea;

19) 19) 1-(4-cloro-2,6-difluoro-fenil)-3-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-urea; y

20) 20) 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenil)-urea,

25) y las sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en 1-{3-fluoro-4-[7-(5-metil-1H-imidazol-2-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-fenil}-3-(2,4,6-trifluorofenil)-urea, y una sal, hidrato, y solvato del mismo farmacéuticamente aceptable del mismo.

30) 3. Una composición farmacéutica que comprende cualquier compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 como un ingrediente activo para el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa.

30) 4. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 como un ingrediente activo para uso en el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa.

35) 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 2 como un ingrediente activo para uso en el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa.

40) 6. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en la que dicha proteína quinasa es ABL, ACK, AXL, Aurora, BLK, BMX, BTK, CDK, CSK, DDR, EPHA, FER, FES, FGFR, FGR, FLT, FRK, FYN, HCK, IRR, ITK, JAK, KDR, KIT, LCK, LYN, MAPK, MER, MET, MINK, MNK, MST, MUSK, PDGFR, PLK, RET, RON, SRC, SRM, TIE, SYK, TNK1, TRK o TNIK.

7. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 6, en la que la proteína quinasa es BTK.

8. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, en la que las enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de la proteína quinasa son cáncer, inflamación asociada con artritis reumatoide y osteoartritis, asma, alergia, dermatitis atópica o psoriasis.
9. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8, en la que la enfermedad es cáncer.
- 5 10. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en la que el cáncer es linfoma, leucemia, cáncer de sangre, cáncer de estómago, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de intestino delgado, cáncer de páncreas, cáncer de cerebro, cáncer de hueso, melanoma, cáncer de mama, adenosis esclerosante, cáncer uterino, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer de riñón, sarcoma, cáncer de próstata, cáncer de uretra, cáncer de vejiga, fibroadenoma , o glioblastoma.
- 10 11. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 10, en la que el cáncer es un linfoma.
12. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 10, en la que el cáncer es leucemia.
- 15 13. La composición farmacéutica de la reivindicación 3 o la composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 12, que comprende además al menos un aditivo seleccionado del grupo que consiste en antibiótico, agente alquilante, antimetabolito, agente hormonal, agente immunológico, agente de tipo interferón y agente anticancerígeno.
14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para uso en el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa en un mamífero, comprendiendo dicho uso administrar al mamífero el compuesto de las reivindicaciones 1 o 2.
- 20 15. El compuesto de la reivindicación 2 para uso en el tratamiento, alivio o prevención de enfermedades causadas por la activación anormal o no controlada de proteína quinasa en un mamífero, comprendiendo dicho uso administrar al mamífero el compuesto de la reivindicación 2.
16. Una composición farmacéutica que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de la reivindicación 1.
- 25 17. Una composición farmacéutica que comprende al menos un portador farmacéuticamente aceptable y como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 2.