

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 577**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4192 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 403/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07803049 .1**

96 Fecha de presentación: **30.08.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2066319**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.06.2009**

54 Título: **Benzotriazol como moduladores de quinasas**

30 Prioridad:
08.09.2006 US 843090 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2012

73 Titular/es:
**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
GRENZACHERSTRASSE, 124
4070 BASEL, CH**

72 Inventor/es:
**GOLDSTEIN, David Michael;
GONG, Leyi;
MICHOU, Christophe;
PALMER, Wylie Solang y
SIDDURI, Achyutharao**

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

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).

ES 2 378 577 T3

DESCRIPCIÓN

Benzotriazol como moduladores de quinasas

La presente invención se refiere a un método para modular quinasas c-Jun-N-terminales (JNK) y quinasas dependientes de ciclina (CDK) y un método para tratar un sujeto que sufre una enfermedad o estado patológico, que puede aliviarse mediante la modulación de las JNK o CDK con compuestos heterocíclicos, más en concreto con derivados del benzotriazol. La invención se refiere además a nuevos compuestos heterocíclicos y composiciones farmacéuticas que contienen dicho compuesto.

Las quinasas c-Jun-N-terminales (JNK) forman parte del grupo de las proteína-quinasas activadas con mitógeno junto con la p38 y las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK). Se han identificado tres genes distintos (jnk1, jnk2 y jnk3) que codifican a 10 variantes de empalme (Y.T. Ip y R.J. Davis, *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 205-19, 1998). La JNK1 y JNK2 se expresan en una gran variedad de tejidos, mientras que la JNK3 se expresa principalmente en neuronas y en menor grado en el corazón y los testículos (D.D. Yang y col., *Nature* 389, 865-70, 1997). Los componentes del grupo JNK se activan por acción de citocinas pro-inflamatorias, como son el factor α de necrosis tumoral (TNF- α) y la interleucina-1 β (IL-1 β), así como el estrés de origen ambiental. La activación de las JNK está mediada por quinasas situadas en posición ascendente (upstream), la MKK4 y la MKK7, mediante la fosforilación dual de la Thr-183 y Tyr-185 (B. Derijard y col., *Cell* 76, 1025-37, 1994). Se ha constatado que la MKK4 y la MKK7 pueden activarse con diversas quinasas situadas en posición ascendente (upstream), incluidas la MEKK1 y la MEKK4, en función de los estímulos externos y del contexto celular (D. Boyle y col., *La artritis Rheum.* 48, 2450-24, 2003). La especificidad de la señalización de la JNK se logra formando un complejo de señalización específico de la JNK que contiene múltiples componentes de la cascada de quinasas empleando proteínas de andamio llamadas proteínas de interacción con JNK (J. Yasuda y col., *Mol. Cell. Biol.* 19, 7245-54, 1999). Se ha constatado que las JNK desempeñan un papel importante en la inflamación, las funciones de las células T, la apoptosis y la supervivencia celular por fosforilación de sustratos específicos, incluidos los factores de transcripción, como son el c-Jun, el componente del grupo de las proteínas-1 activadoras (AP1) y del ATF2, así como factores que no son de transcripción, por ejemplo el IRS-1 y Bcl-2 (A.M. Manning y R.J. Davis, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2, 554-65, 2003). Se cree que la sobre-activación de las JNK es un mecanismo importante en las enfermedades autoinmunes, inflamatorias, metabólicas, neurológicas así como en el cáncer.

La artritis reumatoide (RA) es una enfermedad sistémica autoinmune, caracterizada por la inflamación crónica de las articulaciones. Además del hinchamiento de las articulaciones y del color causado por el proceso inflamatorio, la mayoría de pacientes de RA acaban desarrollando una lesión articular debilitadora y la deformación articular. Varios grupos de indicios farmacológicos y genéticos poderosos obtenidos en modelos celulares y animales sugieren con fuerza la relevancia y la importancia de las JNK activadas en la patogénesis de la RA. En primer lugar, se ha detectado una activación anormal de las JNK en las articulaciones artríticas humanas de pacientes de RA (G. Schett y col., *La artritis Rheum.* 43, 2501-12, 2000) y en articulaciones artríticas de roedores en modelos animales de artritis (Z. Han y col., *J. Clin. Invest.* 108, 73-81, 2001). Además, la inhibición de la activación de las JNK con inhibidores selectivos de JNK bloquea a las citocinas proinflamatorias y la producción de MMP en sinoviocitos, macrófagos y linfocitos humanos (Z. Han y col., lugar citado, 2001). Es importante destacar que la administración de inhibidores selectivos de JNK en ratas con artritis de adyuvante (Z. Han y col., lugar citado, 2001) o en ratones con artritis inducida con colágeno (P. Gaillard y col., *J. Med. Chem.* 14, 4596-607, 2005) protege eficazmente las articulaciones de la destrucción y reduce de modo significativo el hinchamiento de las garras mediante la inhibición de las citocinas y la expresión de la collagenasa. Además, los ratones deficientes en JNK2 están especialmente protegidos contra la destrucción articular, pero tienen poco efecto en el hinchamiento de las zarpas y en la inflamación del modelo de artritis pasiva inducida con colágeno. Estos estudios indican que la JNK2 es funcionalmente redundante con la JNK1 en lo que respecta a sus roles en la degradación estructural, en la inflamación y en el hinchamiento de las garras. Por lo tanto, la inhibición combinada de las actividades de ambas JNK1 y JNK2 es necesaria para lograr una terapia eficaz contra la RA (Z. Han y col., *La artritis Rheum.* 46, 818-23, 2002).

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias, caracterizada por la presencia de un proceso inflamatorio celular y por una hiper-respuesta bronquial asociada a cambios estructurales de las vías respiratorias (B. Bradley y col., *J. Allergy Clin. Immunol.* 88, 661-74, 1991). Se ha observado que este trastorno puede desencadenarse por muchos tipos de células de las vías respiratorias, incluidos los linfocitos T, los eosinófilos, los mastocitos, los neutrófilos y las células epiteliales (J. Bousquet y col., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161, 1720-45, 2000). Las JNK han emergido como dianas terapéuticas prometedoras para el tratamiento del asma, basado en los recientes estudios de revisión de planteamiento de los modelos celulares y animales empleando inhibidores selectivos de la JNK (K. Bleas y col., *Expert Opin. Emerg. Drugs* 8, 71-81, 2003). Se ha puesto de manifiesto que los inhibidores de la JNK bloquean de modo significativo la producción de RANTES en células lisas activadas de las vías respiratorias humanas (K. Kujime y col., *J. Immunol.* 164, 3222-28, 2000). Lo que es más importante, se ha observado que los inhibidores de JNK tienen buena eficacia en modelos crónicos de ratas y ratones por su capacidad de reducir la infiltración celular, la inflamación, la hiper-respuesta, la proliferación de células de músculo liso y la producción de IgE (P. Nath y col., *Eur. J. Pharmacol.* 506, 273-83, 2005; P. Eynott y col., *Br. J. Pharmacol.* 140, 1373-80, 2003). Estas observaciones sugieren una rol importante de las JNK en la inflamación alérgica, en los procesos de remodelación de las vías respiratorias asociados con la tendencia a la

hiper-respuesta. Por lo tanto, se espera que el bloqueo de la actividad de las JNK sea beneficioso para el tratamiento del asma.

La diabetes de tipo 2 es la enfermedad metabólica más grave y predominante, que se caracteriza por la resistencia a la insulina y el desequilibrio en la secreción de insulina como resultado de una inflamación crónica de nivel bajo y un metabolismo anormal de lípidos asociado con un estrés oxidante. Se ha publicado que la actividad de la JNK se eleva de forma anormal en varios tejidos diana diabéticos en condiciones de obesidad y diabetes (J. Hirosumi y col., *Nature* **420**, 333-36, 2002; H. Kaneto, *Expert. Opin. Ther. Targets* **9**, 581-92, 2005). La activación del mecanismo de la JNK mediante citocinas pro-inflamatorias y estrés oxidante regula de modo negativo la señalización de la insulina a través de la fosforilación del sustrato llamado *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) en la Ser³⁰⁷, por consiguiente contribuyen a la resistencia a la insulina y a la tolerancia de la glucosa (J. Hirosumi y col., *Nature*, lugar citado, 2002; Y. Lee y col., *J. Biol. Chem.* **278**, 2896-902, 2003; Y. Nakatani y col., *J. Biol. Chem.* **279**, 45803-09, 2004). Se han obtenido indicios genéticos concluyentes de estudios elegantes con modelos animales empleando ratones *jnk^{-/-}* cruzados con ratones genéticamente obesos (*ob/ob*) o con ratones obesos a raíz de la dieta ingerida. La pérdida de las funciones de la JNK1 (*JNK1^{-/-}*), pero no de las JNK2 (*jnk2^{-/-}*), protege a los ratones obesos del aumento de peso, aumenta los niveles de estado constante de glucosa en la sangre y disminuye los niveles de insulina en plasma (J. Hirosumi y col., *Nature*, lugar citado, 2002). Se han observado además los efectos beneficiosos de un modelo diabético genético (ratones *db/db*) por administración de un inhibidor de molécula pequeña de la JNK, el CC105 (B. Bennett y col., *Curr. Opin. Pharmacol.* **3**, 420-25, 2003) o un péptido I inhibidor de la JNK (JIP) derivado del dominio de fijación de la JNK de la proteína 1 que interacciona con la JNK (JIP-1) (H. Kaneto y col., *Nat. Med.* **10**, 1128-32, 2004), incluidos niveles significativamente bajos de glucosa en sangre y altos de insulina en plasma. De modo más interesante, otro artículo reciente (A. Jaeschke y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 6931-35, 2005) revela que la JNK2 desempeña un rol importante en la diabetes de tipo 1, causada por la destrucción autoinmune de células β productoras de insulina. Los ratones diabéticos no obesos, deficientes en expresión de JNK2, presentan una insulinitis destructiva reducida y una menor progresión de la enfermedad hacia la diabetes, debido probablemente a la polarización sesgada hacia el fenotipo Th2. En su conjunto, estos estudios demuestran la utilidad de los inhibidores de JNK para el tratamiento de la obesidad/diabetes de tipo 2.

Las enfermedades neurodegenerativas, como son la enfermedad de Alzheimer (AD), la de Parkinson (PD) y la apoplejía se caracterizan por la pérdida sináptica, la atrofia y la muerte neuronal. Se ha constatado que el mecanismo de la JNK que conduce a la activación de la c-Jun desempeña un rol causal en la apoptosis de neuronas embrionarias primarias aisladas y líneas celulares neuronales múltiples después de la inducción de una gran variedad de estímulos (D. Bozyczko-Coyne y col., *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* **1**, 31-49, 2002). Se ha observado la sobreactivación de la JNK en cerebros humanos de pacientes de AD (J. Pei y col., *J. Alzheimers Dis.* **3**, 41-48, 2001) o en secciones de cerebros de roedores derivados de modelos animales de enfermedades neurodegenerativas (M. Saporito y col., *J. Neurochem.* **75**, 1200-08, 2000). Por ejemplo, se detectan más fosfo-JNK en los cerebros "post-mortem" de pacientes de AD. La administración del péptido inhibidor de JNK (péptido JIP-1) en el modelo de AD de roedores inducida por la administración de péptido β -amiloide previene el desequilibrio de la plasticidad sináptica. En los modelos animales de la PD (modelo MPTP), se observan niveles elevados de fosfo-MKK4 y fosfo-JNK de modo concomitante con la muerte de células neuronales. La transferencia genética adenovírica del péptido inhibidor de la JNK (péptido JIP-1) hacia el cuerpo estriado de los ratones atenúa el desequilibrio de la conducta por inhibición de la JNK mediada por el MPTP, la activación de c-Jun y de caspasa, por consiguiente bloquea la muerte de células neuronales en la sustancia negra (X. Xia y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 10433-38, 2001). Además, en el modelo animal de apoplejía isquémica inducida por la excitotoxicidad de glutamato, los ratones deficientes en JNK3, pero no en JNK1 ni en JNK2, se muestran resistentes al ataque epiléptico mediado por el ácido cálnico (agonista de receptor de glutamato) o a la muerte neuronal (D.D. Yang y col., *Nature* **389**, 865-70, 1997). Estos datos sugieren que la JNK3 es causante sobre todo de la excitotoxicidad del glutamato, un importante componente de los estados patológicos isquémicos. En su conjunto, estos datos sugieren que las JNK son dianas atractivas para el tratamiento de múltiples enfermedades del SNC asociadas con la muerte de células neuronales.

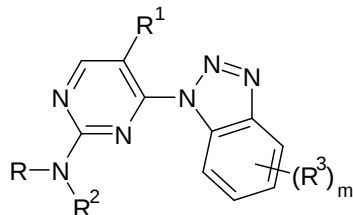
El crecimiento celular incontrolado, la proliferación y la migración junto con una angiogénesis descontrolada conducen a la formación de tumores malignos. El mecanismo de transducción de señales de la JNK puede que actúe de forma no exclusiva en la apoptosis, la activación persistente de la JNK conduce a la activación de la AP1, que se ha observado recientemente como implicada en la supervivencia celular de tipos de cáncer específicos, como son los tumores gliales y la BCL-ABL transformada en linfoblastos B (M. Antonyak y col., *Oncogene* **21**, 5038-46, 2002; P. Hess y col., *Nat. Genet.* **32**, 201-05, 2002). En el caso de tumores gliales, se ha observado una mayor actividad JNK/AP1 en la mayor parte de las muestras de tumores cerebrales primarios. Para los linfoblastos B transformados, se constata que la BCL-ABL activa el mecanismo de la JNK, que a su vez, incrementa la expresión del gen *bcl-2* anti-apoptótico. Es interesante reseñar que la resistencia multi-fármaco y la hiper-proliferación observada en el tratamiento de pacientes de AML reacios al tratamiento se ha asociado causalmente con la actividad JNK persistente, presente en estas muestras de AML (L. Cripe y col., *Leukemia* **16**, 799-812, 2002). La activación de JNK en células leucémicas da como resultado una expresión inducida de bombas de eflujo, por ejemplo la *mdr1* y la *MRP1*, que provocan la resistencia a múltiples fármacos. Además, los genes con un beneficio de supervivencia, en respuesta al estrés oxidante, incluida la glutatona-S-transferasa π y la γ -glutamyl-cisteína-sintasa, se regulan en sentido creciente cuando se activa el mecanismo de la JNK.

Por consiguiente, los moduladores de JNK son útiles para el tratamiento de un amplio abanico de enfermedades y/o estados patológicos.

El rol de las quinasas dependientes de ciclina ("cdk") en la regulación de la proliferación celular es bien conocido. Existe un amplio acervo de bibliografía técnica que avala el uso de compuestos que inhiben dianas de los mecanismos de la Cdk4, Cdk2 y Cdk1 en su condición de agentes terapéuticos antiproliferantes, véase p.ej. J. Lukas y col., *Nature* **79**, 573-82, 1995; J.R. Nevins, *Science* **258**, 424-29, 1992; I.K. Lim y col., *Mol. Carcinogen* **23**, 25-35, 1998; S.W. Tam y col., *Oncogene* **9**, 2663-74, 1994; B. Driscoll y col., *Am. J. Physiol.* **273** (Lung Cell. Mol. Physiol.) L941-L949, 1997; y J. Sang y col., *Chin. Sci. Bull.* **44**, 541-44, 1999. Los inhibidores de la proliferación celular actúan como agentes citostáticos reversibles, que son útiles para el tratamiento de procesos patológicos, que dan pie a un crecimiento celular anormal, como son el cáncer y otros trastornos proliferantes, incluidos por ejemplo la inflamación (p.ej. la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neuro-fibromatosis, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio, las infecciones de rechazo de trasplantes), las infecciones víricas, (incluidas, pero sin limitarse a ellas: la infección de herpesvirus, de poxavirus, de virus de Epstein-Barr), las enfermedades autoinmunes (p.ej. el lupus, la artritis reumatoide, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio), los trastornos neurodegenerativos (incluida, pero sin limitarse a ella: la enfermedad de Alzheimer) y las enfermedades neurodegenerativas (p.ej. la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la retinitis pigmentosa, la atrofia muscular espinal y la degeneración cerebral).

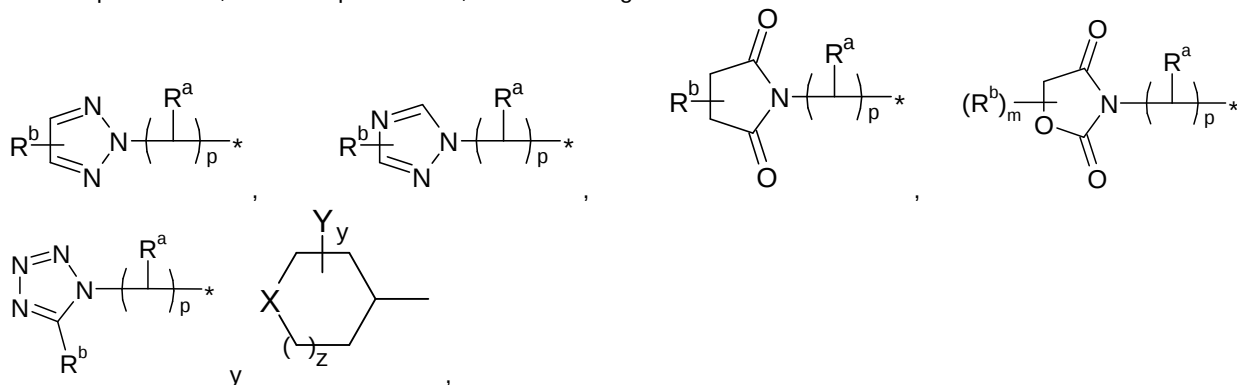
La US 6498165 describe compuestos de pirimidina sustituidos que son útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y trastornos hiperproliferativos.

En un aspecto de la invención se proporciona un compuesto de la fórmula I:



I
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en la que

R es alquilo inferior, hidroxi-alquilo inferior, o un resto elegido entre:



en los que

cada R^a es con independencia H, alquilo inferior, OH o hidroxi-alquilo inferior;

cada R^b es con independencia H, alquilo inferior, halógeno, nitro o halo-alquilo inferior;

pes el número 2, 3 ó 4;

X es O, CR^4R^5 , $C(=O)$ o $S(O)_x$;

R^1 es hidrógeno, halógeno, alquilo o NH_2 ;

cada uno de R^3 es con independencia halógeno, $-NO_2$, alquilo inferior, $-CN$, $-OR^7$, $-NR^8R^9$, $-C(O)-R^7$, $-O-C(O)-R^7$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-SO_2-R^{10}$, o dos de R^3 forman alquilenodioxo;

R^4 es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, $-(CH_2)_nOR^7$, $-(CH_2)_nNR^8R^9$, $-(CH_2)_n-C(O)-NR^8R^9$, $-(CH_2)_n-OC(O)-NR^8R^9$, $-(CH_2)_n-C(O)-OR^7$, $-NR^7-SO_2-R^{10}$, $-(CH_2)_n-NR^8-C(O)-R^{11}$ o $-(CH_2)_n-NR^8-C(O)-OR^6$;

R^5 es hidrógeno o alquilo;

o R^4 y R^5 juntos forman alquilenodioxo;

R^6 es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, cicloalquilo, heterociclicalquilo o $-NR^8R^9$;

R^{10} es alquilo, cicloalquilo, heterociclicalquilo o $-NR^8R^9$;

R^{11} es alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo o (heterocicli)alquilo;

R^2 y R^7 son con independencia entre sí hidrógeno o alquilo inferior;

R^8 es hidrógeno, alquilo inferior, o acilo;

R^9 es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, cicloalquilo;

o R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un heterociclilo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno en el anillo, opcionalmente sustituido por OH, oxo, alquilo inferior, alcoxi inferior o acilo;

cada uno de m y x es con independencia un número entero de 0 a 2;

Y es hidrógeno, $-(CH_2)_n-OR^7$, $-(CH_2)_n-C(O)-R^7$ o $-(CH_2)_n-C(O)-OR^7$;

cada uno de y y z es con independencia el número 0 ó 1; y

n es un número entero de 0 a 4.

La invención proporciona también composiciones farmacéuticas, métodos de uso y métodos de obtención de los compuestos recién mencionados.

Los compuestos y composiciones de la invención son útiles para el tratamiento y/o prevención de un trastorno mediado por una quinasa c-Jun-N-terminal, como son los trastornos autoinmunes, los trastornos inflamatorios, los trastornos metabólicos, las enfermedades neurológicas y el cáncer. En algunas formas de ejecución, los compuestos y composiciones de la invención son útiles para tratar y/o prevenir la artritis reumatoide, el asma, la diabetes de tipo II, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y/o la apoplejía.

Los compuestos y composiciones de la invención son útiles para el tratamiento y/o prevención de un trastorno mediado por una CDK, que en general son procesos patológicos caracterizados por un crecimiento celular anormal, por ejemplo el cáncer y otros trastornos de proliferación celular, que incluyen por ejemplo la inflamación (p.ej. la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neuro-fibromatosis, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio, las infecciones de rechazo de trasplante), las infecciones víricas (incluidas, pero sin limitarse a ellas: las infecciones de herpesvirus, poxavirus, virus de Epstein-Barr), las enfermedades autoinmunes (p.ej. el lupus, la artritis reumatoide, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio), los trastornos neurodegenerativos (incluida, pero sin limitarse a ella: la enfermedad de Alzheimer) y las enfermedades neurodegenerativas (p.ej. la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la retinitis pigmentosa, la atrofia muscular espinal y la degeneración cerebral).

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos empleados en esta solicitud, incluyendo la descripción y las reivindicaciones, tienen los significados que se definen a continuación. Cabe reseñar que, tal como se emplean en la descripción y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen también los referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

"Alquilo" significa un resto hidrocarburo saturado monovalente, lineal o ramificado, formado exclusivamente por átomos de carbono e hidrógeno, que tiene de uno a doce átomos de carbono. "Alquilo inferior" indica un resto alquilo de uno a seis átomos de carbono, es decir, alquilo C_1-C_6 . Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero no se limitan a: metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo, n-hexilo, octilo, dodecilo. "Alquilo ramificado" indica un resto alquilo que tiene por lo menos una ramificación, por ejemplo, isopropilo, isobutilo, tert-butilo, p.ej. De modo similar, "alcoxi inferior" indica un resto de la fórmula $-OR$ y "acilo" indica un resto de la fórmula $-C(O)R$, en la que R es alquilo inferior.

"Alquilenos" significa un resto hidrocarburo saturado divalente lineal, que tiene de uno a seis átomos de carbono o un resto hidrocarburo saturado divalente ramificado que tiene de tres a seis átomos de carbono, p.ej., metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, pentileno.

"Alquilenos-dioxi" significa un resto divalente de la fórmula $-O-R-O-$, en la que R es alquilenos ya definido antes.

"Arilo" significa un resto hidrocarburo cíclico aromático monovalente que tiene un anillo aromático mono-, bi- o tricíclico. Son preferidos el fenilo y el naftilo. El resto arilo puede estar opcionalmente sustituido del modo que aquí se indica. Los ejemplos de restos arilo incluyen, pero no se limitan a: fenilo opcionalmente sustituido, naftilo, fenantrilo, fluorenilo, indenilo, pentalenilo, azuleno, oxidifenilo, bifenilo, metilenodifenilo, aminodifenilo, difenilsulfidilo, difenilsulfonilo, difenilisopropilidenilo, benzodioxanilo, benzofuranilo, benzodioxililo, benzopirranilo, benzoxazinilo, benzoxazinonilo, benzopiperadinilo, benzopiperazinilo, benzopirrolidinilo, benzomorfolinilo, metilenodioxifenilo, etilenodioxifenilo, incluidos los derivados parcialmente hidrogenados de los mismos.

"Cicloalquilo" significa un resto carbocíclico saturado monovalente, que contiene anillos mono- o bicíclicos. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes, cada sustituyente es con independencia hidroxilo, alquilo, alcoxi, halógeno, haloalquilo, amino, monoalquilamino o dialquilamino, a menos que se indique específicamente lo contrario. Un cicloalquilo preferido es el cicloalquilo C_{3-7} monocíclico. Los ejemplos de restos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, incluidos los derivados parcialmente hidrogenados de los mismos.

"Cicloalquilalquilo" significa un resto de la fórmula $-R^a-R^b$, en la que R^a es alquilenos y R^b es cicloalquilo ya definidos antes.

“Heteroalquilo” significa un resto alquilo ya definido antes, incluido el alquilo C₄-C₇ ramificado, en el que uno, dos o tres átomos de hidrógeno se han reemplazado por un sustituyente elegido con independencia entre el grupo formado por –OR^a, –NR^bR^c y –S(O)_nR^d (en el que n es un número entero de 0 a 2), dando por supuesto que el punto de unión del resto heteroalquilo es a través de un átomo de carbono, en el que R^a es hidrógeno, acilo, alquilo, cicloalquilo o cicloalquilalquilo; R^b y R^c son con independencia entre sí hidrógeno, acilo, alquilo, cicloalquilo o cicloalquilalquilo; y si n es 0, R^d es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o cicloalquilalquilo; si n es 1, R^d es alquilo, cicloalquilo o cicloalquilalquilo; y si n es 2, R^d es alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, amino, acilamino, monoalquilamino o dialquilamino. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a: 2-hidroxietilo, 3-hidroxipropilo, 2-hidroxi-1-hidroximetiletilo, 2,3-dihidroxipropilo, 1-hidroximetiletilo, 3-hidroxibutilo, 2,3-dihidroxibutilo, 2-hidroxi-1-metilpropilo, 2-aminoetilo, 3-aminopropilo, 2-metilsulfoniletilo, aminosulfonilmetilo, aminosulfoniletilo, aminosulfonilpropilo, metilaminosulfonilmetilo, metilaminosulfoniletilo y metilaminosulfonilpropilo.

“Heteroarilo” significa un resto monocíclico o bicíclico de 5 a 12 átomos en el anillo, que tiene por lo menos un anillo aromático que contiene uno, dos o tres heteroátomos elegidos entre N, O y S, los demás átomos del anillo son C, dando por supuesto que el punto de unión del resto heteroarilo estará situado en el anillo aromático. El anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido del modo que aquí se indica. Los ejemplos de restos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a: imidazolilo opcionalmente sustituido, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirazinilo, tienilo, tiofenilo, furanilo, piranilo, piridinilo, pirrolilo, pirazolilo, pirimidilo, piridazinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzofurilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, benzotiopiranilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, benzooxadiazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzopiranilo, indolilo, isoindolilo, indazolilo, triazolilo, triazinilo, quinoxalinilo, purinilo, quinazolinilo, quinolizínilo, naftiridinilo, pteridinilo, carbazolilo, azepínilo, diazepínilo, acridínilo, incluidos los derivados parcialmente hidrogenados de los mismos.

Los términos “halógeno”, “halo” y “haluro” se emplean indistintamente y significan un sustituyente flúor, cloro, bromo o yodo.

“Haloalquilo” significa alquilo ya definido antes, en el que uno o más átomos de hidrógeno se han reemplazado por un halógeno igual o diferente. Los ejemplos de haloalquilo incluyen al –CH₂Cl, –CH₂CF₃, –CH₂CCl₃, perfluoralquilo (p.ej. –CF₃).

“Heterociclilo” significa un resto saturado monovalente, que tiene de uno a tres anillos y contiene uno, dos, tres o cuatro heteroátomos (elegidos entre nitrógeno, oxígeno y azufre). Es preferido un heterociclilo monocíclico que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo. El anillo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido del modo que aquí se indica. Los ejemplos de restos heterociclilo incluyen, pero no se limitan a: piperidinilo opcionalmente sustituido, piperazinilo, homopiperazinilo, azepínilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinuclidinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, tiadiazolidinilo, benzotiazolidinilo, benzoazolidinilo, dihidrofurilo, tetrahydrofurilo, dihidropiranilo, tetrahidropiranilo, tiamorfolinilo, sulfóxido de tiamorfolinilo, tiamorfolinilsulfona, dihidroquinolinilo, dihidroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahidrisoquinolinilo.

“Opcionalmente sustituido”, empleado en asociación con “arilo”, “fenilo”, “heteroarilo” o “heterociclilo”, significa un resto arilo, fenilo, heteroarilo o heterociclilo que está opcionalmente sustituido por independencia por uno o más sustituyentes, con preferencia de uno a cuatro y con preferencia especial de uno a tres sustituyentes elegidos entre alquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, oxo (es decir, =O), haloalquilo, –(CH₂)_mCOR⁷, –(CH₂)_mSO₂R⁷, alcoxi C₁₋₆, halógeno, alquilio C₁₋₆, alquilsulfonilo C₁₋₆, –SO₂NR⁸R⁹, ciano, nitro y –NR⁸R⁹, en los que m, R⁷, R⁸ y R⁹ tienen los significados ya definidos antes.

Los restos preferidos de los grupos químicos, cuyas definiciones se han indicado antes, son los que se mencionan específicamente en los ejemplos.

“Grupo saliente” significa un grupo con el significado que se le asocia convencionalmente en química orgánica sintética, es decir, un átomo o grupo que puede desplazarse en condiciones de reacción de sustitución. Los ejemplos de grupos salientes incluyen, pero no se limitan a: halógeno, alcano- o arilenosulfonilo, por ejemplo metanosulfonilo, etanosulfonilo, tiometilo, bencenosulfonilo, tosilo y tienilo, dihalofosfinoilo, bencilo opcionalmente sustituido, isopropilo, acilo.

“Opcional” u “opcionalmente” significa que el acontecimiento o circunstancia que se menciona a continuación puede ocurrir, pero no de modo forzoso, y que la descripción incluye los casos en los que tal hecho o circunstancia ocurren y aquellos en los que no ocurren.

“Enfermedad” y “estado patológico” significan cualquier enfermedad, estado patológico, síntoma, trastorno o indicación.

“Disolvente orgánico inerte” o “disolvente inerte” significa que el disolvente es inerte en las condiciones en las que se realiza la reacción descrita en relación con el mismo, incluidos por ejemplo el benceno, tolueno, acetonitrilo, tetrahydrofurano, N,N-dimetilformamida, cloroformo, cloruro de metileno o diclorometano, dicloroetano, éter de dietilo,

acetato de etilo, acetona, metiletilcetona, metanol, etanol, propanol, isopropanol, tert-butanol, dioxano, piridina. A menos que se indique lo contrario, los disolventes empleados en las reacciones de la presente invención son disolventes inertes.

5 “Farmacéuticamente aceptable” significa que es útil para preparar una composición farmacéutica composición farmacéutica y que en general es seguro, no tóxico y no molesto en sentido biológico ni en ningún otro sentido y que incluye que es aceptable para el uso farmacéutico humano y para el uso veterinario.

10 “Sales farmacéuticamente aceptables” de un compuesto significa sales que son farmacéuticamente aceptables, en el sentido recién definido y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Tales compuestos incluyen:

15 las sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, tales como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico; o las formadas con ácidos orgánicos, tales como el ácido acético, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido alcanforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido hidroxinaftoico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido mucónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trimetilacético; o sales formadas cuando está presente un protón ácido en el compuesto original y se reemplaza por un ion metálico, p.ej. un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo, un ion de aluminio; o los compuestos de coordinación con una base orgánica o inorgánica. Las bases orgánicas aceptables incluyen a la dietanolamina, etanolamina, N-metilglucamina, trietanolamina, trometamina. Las bases inorgánicas aceptables incluyen al hidróxido de aluminio, hidróxido cálcico, hidróxido potásico, carbonato sódico, hidróxido sódico.

25 Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son las sales formadas con ácido acético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido cítrico, sodio, potasio, calcio, cinc y magnesio.

30 “Grupo protector” significa el grupo que bloquea selectivamente un sitio reactivo de un compuesto multifuncional, de modo que se puede llevar a cabo una reacción química selectivamente en otro sitio reactivo no protegido, en el sentido convencional asociado con este término en química orgánica sintética. Ciertos procesos de esta invención se basan en los grupos protectores que bloquean átomos de nitrógeno y/o de oxígeno reactivos, que están presentes en los reactivos. Por ejemplo, los términos “grupo protector de amino” y “grupo protector de nitrógeno” se utilizan indistintamente e indican aquellos grupos orgánicos, de los cuales se pretende proteger el átomo de nitrógeno contra reacciones molestas durante los procedimientos de síntesis. Los ejemplos de grupos protectores de nitrógeno incluyen, pero no se limitan a: trifluoracetilo, acetamido, bencilo (Bn), benciloxicarbonilo (carbobenciloxi, CBZ), p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo (BOC). Los expertos en síntesis orgánica sabrán elegir el grupo apropiado, que sea capaz de resistir las reacciones siguientes y que después pueda eliminarse fácilmente.

40 “Sujeto” significa mamíferos y no mamíferos. Mamíferos significa cualquier miembro del grupo de los mamíferos, incluidos, pero sin limitarse a ellos, los humanos; los primates no humanos, por ejemplo los chimpancés y otras especies de simios y monos; los animales de interés ganadero, por ejemplo el ganado bovino, los caballos, las ovejas, las cabras y los cerdos; los animales domésticos, tales como los conejos, los perros y los gatos; los animales de laboratorio, incluidos los roedores, por ejemplo las ratas, los ratones y las cobayas. Los ejemplos de no mamíferos incluyen, pero no se limitan a los pájaros. El término “sujeto” no denota una edad ni un sexo concretos.

45 “Cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar un estado patológico, es suficiente para llevar a cabo dicho tratamiento del estado patológico. La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar en función del compuesto, del estado patológico tratado, de la severidad y de la enfermedad tratada, la edad y el estado de salud general del sujeto, la vía y la forma de administración, el criterio del personal facultativo o del veterinario y otros factores.

50 Los términos “tiene el significado definido antes” y “tiene el significado aquí definido” cuando se refieren a una variable incorporan la referencia a la definición más amplia de la variable así como las definiciones preferida, más preferida y especialmente preferida de la misma, si las hay.

“Tratar” o “tratamiento” de un estado patológico incluye:

60 (i) prevenir el estado patológico, es decir, conseguir que no se desarrollen los síntomas clínicos del mismo en un sujeto que puede estar expuesto o predispuesto a dicho estado patológico, pero que todavía no experimenta ni manifiesta los síntomas de tal estado;

(ii) inhibir el estado patológico, es decir, interrumpir el desarrollo del estado patológico o de sus síntomas clínicos, o

(iii) aliviar el estado patológico, es decir, conseguir la regresión temporal o permanente del estado patológico o de sus síntomas clínicos.

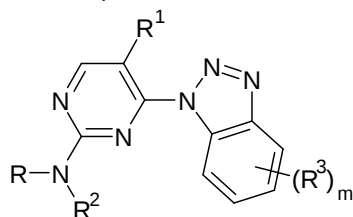
65 Los términos “tratar”, “poner en contacto” y “reaccionar” referidos a una reacción química significan añadir o mezclar dos o más reactivos en condiciones apropiadas para obtener el producto indicado y/o deseado. Por tanto la reacción

para obtener el producto indicado y/o deseado puede no ser el resultado directo de la combinación de dos reactivos, que se cargan inicialmente, es decir, puede haber uno o más compuestos intermedios, que, en último término, conducen a la formación del producto indicado y/o deseado.

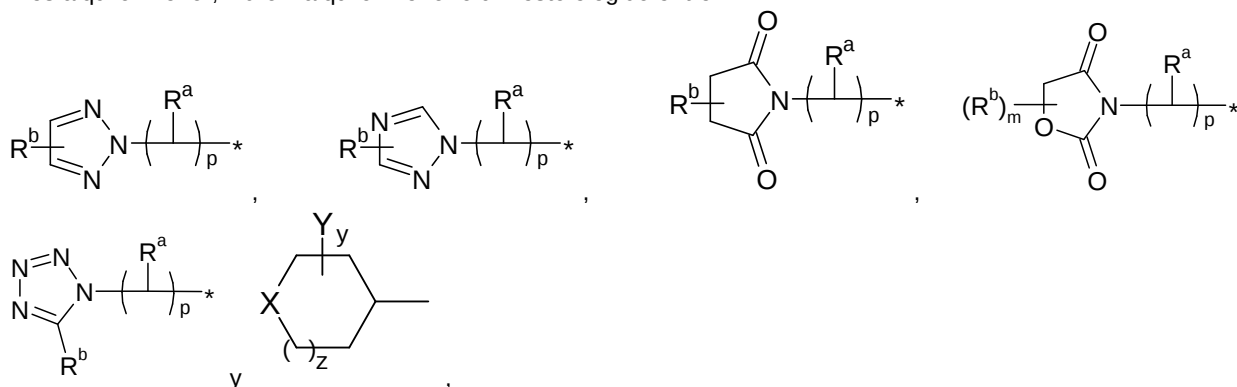
5 En general, la nomenclatura que se utiliza en esta solicitud se basa en el programa AUTONOMTM v. 4.0, un sistema computerizado del Instituto Beilstein para generar la nomenclatura sistemática de la IUPAC. Las estructuras químicas que se presentan se preparan con el programa ISIS[®] versión 2.2. Cualquier valencia abierta que aparece en un átomo de carbono, oxígeno o nitrógeno de las estructuras mencionadas indica la presencia de un átomo de hidrógeno.

10 Si en una estructura química está presente un átomo de carbono quiral, dentro de dicha estructura estarán comprendidos todos los estereoisómeros asociados con este carbono quiral.

En un aspecto de la invención se proporcionan compuestos de la fórmula I:

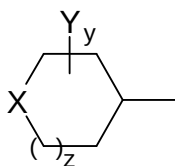


15 I
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,
en la que
R es alquilo inferior, hidroxi-alquilo inferior o un resto elegido entre:



20 en los que
cada R^a es con independencia H, alquilo inferior, OH o hidroxi-alquilo inferior;
cada R^b es con independencia H, alquilo inferior, halógeno, nitro o halo-alquilo inferior;
25 pes el número 2, 3 ó 4;
X es O, CR⁴R⁵, C(=O) o S(O)_x;
R¹ es hidrógeno, halógeno, alquilo o NH₂;
cada uno de R³ es con independencia halógeno, -NO₂, alquilo inferior, -CN, -OR⁷, -NR⁸R⁹, -C(O)-R⁷, -O-C(O)-
R⁷, -CF₃, -CHF₂, -SO₂-R¹⁰, o dos de R³ forman alquilenodioxo;
30 R⁴ es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, -(CH₂)_nOR⁷, -(CH₂)_nNR⁸R⁹, -(CH₂)_n-C(O)-NR⁸R⁹, -(CH₂)_n-OC(O)-NR⁸R⁹,
-(CH₂)_n-C(O)-OR⁷; -NR⁷-SO₂-R¹⁰, -(CH₂)_n-NR⁸-C(O)-R¹¹ o -(CH₂)_n-NR⁸-C(O)-OR⁶;
R⁵ es hidrógeno o alquilo;
o R⁴ y R⁵ forman, juntos, alquilenodioxo;
R⁶ es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo o -NR⁸R⁹;
35 R¹⁰ es alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo o -NR⁸R⁹;
R¹¹ es alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo o (heterocicli)alquilo;
R² y R⁷ son con independencia entre sí hidrógeno o alquilo inferior;
R⁸ es hidrógeno, alquilo inferior, o acilo;
R⁹ es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, cicloalquilo;
40 o R⁸ y R⁹ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman a heterociclilo que contiene por lo menos un
átomo de nitrógeno en el anillo, opcionalmente sustituido por OH, oxo, alquilo inferior, alcoxi inferior o acilo;
cada uno de m y x es con independencia un número entero de 0 a 2;
Y es hidrógeno, -(CH₂)_n-OR⁷, -(CH₂)_n-C(O)-R⁷ o -(CH₂)_n-C(O)-OR⁷;
cada uno de y y z es con independencia el número 0 ó 1; y
45 nes un número entero de 0 a 4.

En ciertas formas de ejecución, R² es hidrógeno o metilo.



En otras formas de ejecución, R es $\text{C}(\text{R}^1)_2$, en el que z es 1 y X es O o CR^4R^5 . En algunas formas de ejecución, R^4 es OH, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^9$, $-\text{NR}^8\text{R}^9$, $-\text{NR}^7\text{SO}_2\text{R}^{10}$ o $-\text{OR}^7$.

En otras formas de ejecución, m es 0.

En otras formas de ejecución, R^1 es hidrógeno, metilo, cloro o flúor.

En una forma de ejecución, X es CR^4R^5 , en el que R^4 y R^5 tienen los significados aquí definidos.

En otras formas de ejecución, R^5 es hidrógeno o metilo.

En algunas formas de ejecución adicionales, z es 1.

En algunas formas de ejecución adicionales, R^4 es $-\text{NR}^7-\text{SO}_2-\text{R}^{10}$, en el que R^7 y R^{10} tienen los significados aquí definidos.

En otras formas de ejecución, x es 2, R^7 es hidrógeno o metilo y R^{10} es metilo, etilo o $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

En algunas formas de ejecución adicionales, z es 1 y R^4 es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, $-(\text{CH}_2)_n\text{OR}^7$ o $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^8\text{R}^9$, o R^4 y R^5 forman, juntos, un alquilenodioxo, en los que n, R^7 , R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos.

En otras formas de ejecución, R^4 es $-(\text{CH}_2)_n\text{OR}^7$, n es el número 0 ó 1 y R^7 es hidrógeno o metilo.

En otras formas de ejecución, R^4 es $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^8\text{R}^9$, en el que n, R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, hay casos en los que n es 0, R^8 es hidrógeno y R^9 es hidrógeno, pirimidin-2-ilo, o piridin-2-ilo. En otros casos dentro de estas formas de ejecución, n es 0 y R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno, al que están unidos, forman un 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo.

En otras formas de ejecución, R^4 es hidrógeno, metilo, etilo o ciano.

En otras formas de ejecución, R^4 y R^5 forman, juntos, un etilenodioxo.

En otras formas de ejecución, los compuestos de la fórmula I incluyen aquellos, en los que z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^8-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{11}$, en el que n, R^8 y R^{11} tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos n es 0, R^8 es hidrógeno o metilo y R^{11} es metilo, etilo, metoximetilo, hidroximetilo, (morfolin-4-il)metilo o (4-metil-piperazin-1-il)metilo.

En otras formas de ejecución, z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^8\text{R}^9$, en el que n, R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos. Dentro de algunas formas de ejecución, en algunos casos n es 0 y R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un morfolin-4-ilo, pirrolidin-1-ilo o 4-metil-piperazin-1-ilo. En otros casos adicionales, n es el número 0 y R^8 es hidrógeno o metilo y R^9 es (2-amino-2-metil)propilo, (2-hidroxietilo), tetrahidropiran-4-ilo, ciclopropilo o etilo.

En otras formas de ejecución, z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^7$, en el que n y R^7 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos n es 0 y R^7 es hidrógeno o metilo.

En otras formas de ejecución, R^4 y R^5 son hidrógeno, z es 0, y es 1 e Y es hidroxilo en la posición 3 del anillo ciclopentilo.

En otras formas de ejecución, R^4 y R^5 son hidrógeno, z es 1, y es 1 e Y es hidroxilo, hidroximetilo o un grupo $-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ en la posición 2 del anillo ciclohexilo.

En ciertas formas de ejecución de compuesto de la fórmula I, z es 1 y X es O, $\text{C}(\text{=O})$ o $\text{S}(\text{O})_2$.

En otras formas de ejecución de compuesto de la fórmula I, X es NR^6 , en el que R^6 tiene el significado definido en la reivindicación 1. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos R^6 es hidrógeno, $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$.

Se apreciará que las combinaciones de los diferentes grupos aquí descritos pueden formar otras formas de ejecución. De este modo, un amplio abanico de diferentes compuestos está contemplado dentro la presente invención. Por ejemplo, en una forma de ejecución, X es CR^4R^5 , en el que R^4 y R^5 tienen los significados aquí definidos. Dentro de esta forma de ejecución, en algunos casos R^5 es hidrógeno o metilo. En otros casos adicionales dentro de esta forma de ejecución, z es 1 y R^4 es $-\text{NR}^7-\text{SO}_2-\text{R}^{10}$, en el que R^7 y R^{10} tienen los significados aquí definidos. Dentro de estos supuestos, en algunos casos R^7 es hidrógeno o metilo y R^{10} es metilo, etilo o $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$. En otros casos adicionales dentro de esta forma de ejecución, z es 1 y R^4 es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, $-(\text{CH}_2)_n\text{OR}^7$ o $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^8\text{R}^9$, o R^4 y R^5 forman, juntos, un alquilenodioxo, en los que n, R^7 , R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estos supuestos, en algunos casos R^4 es $-(\text{CH}_2)_n\text{OR}^7$, n es el número 0 ó 1 y R^7 es hidrógeno o metilo. En otros casos dentro de estos supuestos, R^4 es $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^8\text{R}^9$, en el que n, R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estos casos, algunos de los compuestos concretos incluyen a aquellos, en los que n es 0 y R^8 es hidrógeno y R^9 es hidrógeno, pirimidin-2-ilo o piridin-2-ilo. Otros compuestos concretos dentro de estos casos incluyen a aquellos, en los que n es 0 y R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo. Dentro de otros casos adicionales, R^4 es hidrógeno, metilo, etilo o ciano. En algunos casos dentro de esta forma de ejecución, R^4 y R^5 forman, juntos, un etilenodioxo.

En otras formas de ejecución, los compuestos de la fórmula I incluyen a aquellos, en los que z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^8-\text{C}(\text{O})-\text{R}^{11}$, en el que n, R^8 y R^{11} tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos n es 0, R^8 es hidrógeno o metilo y R^{11} es metilo, etilo, metoximetilo, hidroximetilo, (morfolin-4-il)metilo o (4-metil-piperazin-1-il)metilo.

En otras formas de ejecución, z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^8\text{R}^9$, en el que n, R^8 y R^9 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos n es 0 y R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un resto morfolin-4-ilo, pirrolidin-1-ilo o 4-metil-piperazin-1-ilo. En otros supuestos adicionales, n es 0 y R^8 es hidrógeno o metilo y R^9 es (2-amino-2-metil)propilo, (2-hidroxi)etilo, tetrahidropiran-4-ilo, ciclopentilo o etilo.

En otras formas de ejecución, z es 1 y R^4 es $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^7$, en el que n y R^7 tienen los significados aquí definidos. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos n es 0 y R^7 es hidrógeno o metilo.

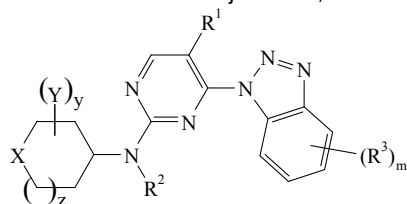
En otras formas de ejecución, R^4 y R^5 son hidrógeno, z es 0, y es 1 e Y es hidroxi en la posición 3 del anillo ciclopentilo.

En otras formas de ejecución, R^4 y R^5 son hidrógeno, z es 1, y es 1 e Y es hidroxi, hidroximetilo o un grupo $-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ en la posición 2 del anillo ciclohexilo.

En ciertas formas de ejecución de compuesto de la fórmula I, z es 1 y X es O, $\text{C}(=\text{O})$ o $\text{S}(\text{O})_2$.

En otras formas de ejecución de compuesto de la fórmula I, X es NR^6 , en el que R^6 tiene el significado definido en la reivindicación 1. Dentro de estas formas de ejecución, en algunos casos R^6 es hidrógeno, $-\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$.

En otras formas de ejecución, los compuestos de la fórmula I son de la fórmula IA:



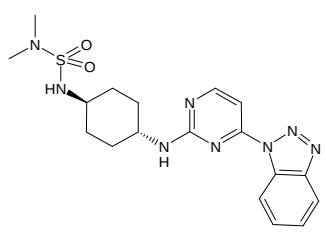
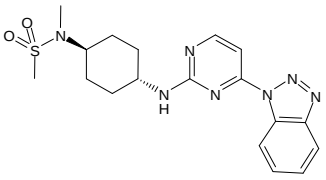
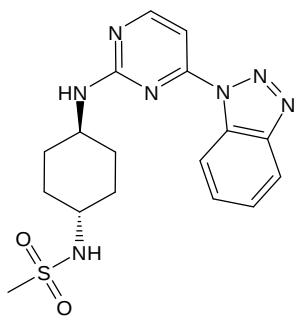
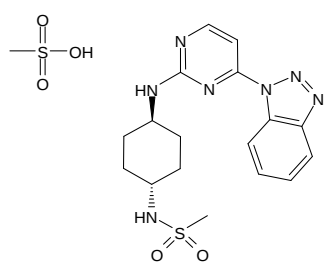
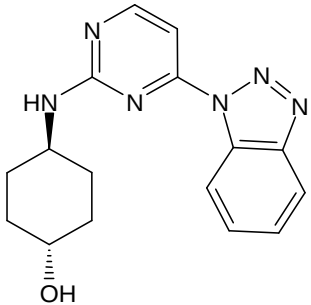
IA

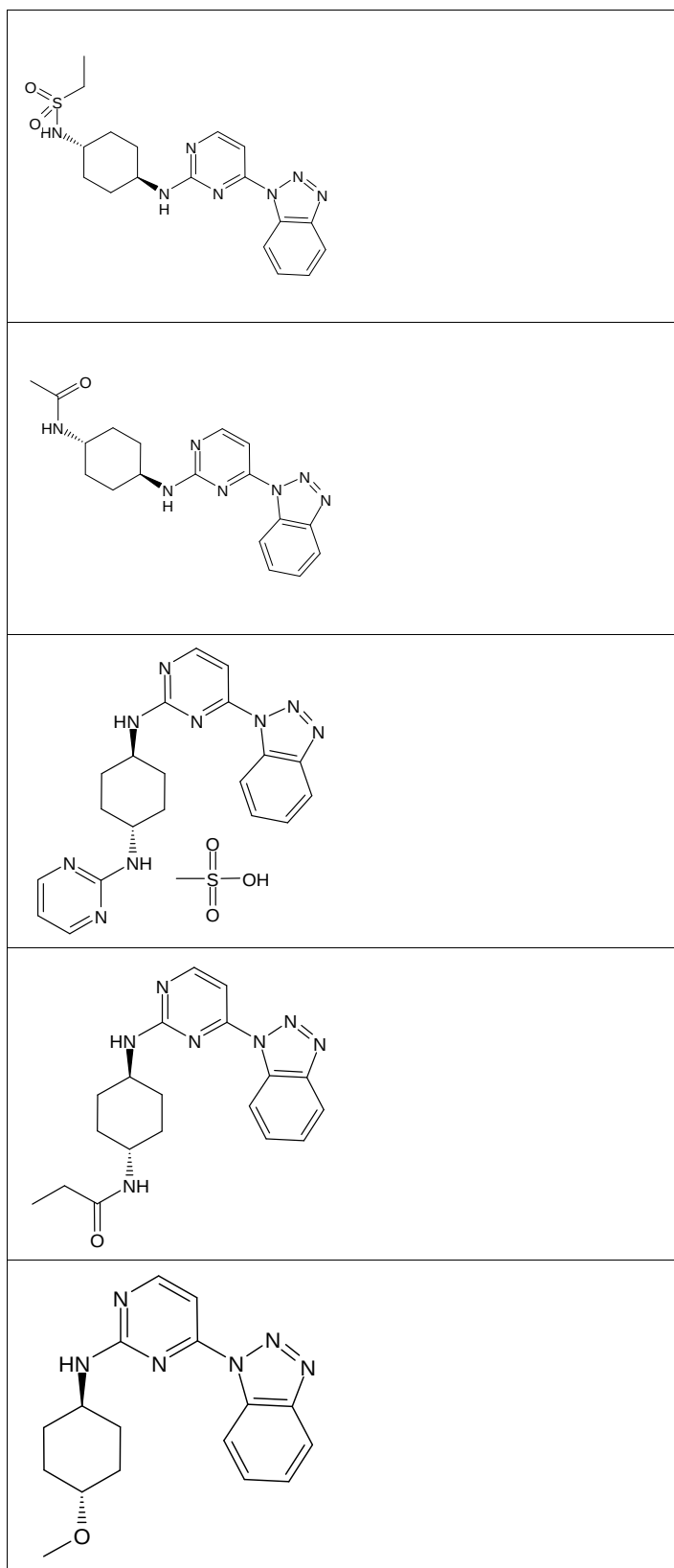
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que X, R^1 , R^2 , R^3 , X, Y, m, y y z tienen los significados aquí definidos.

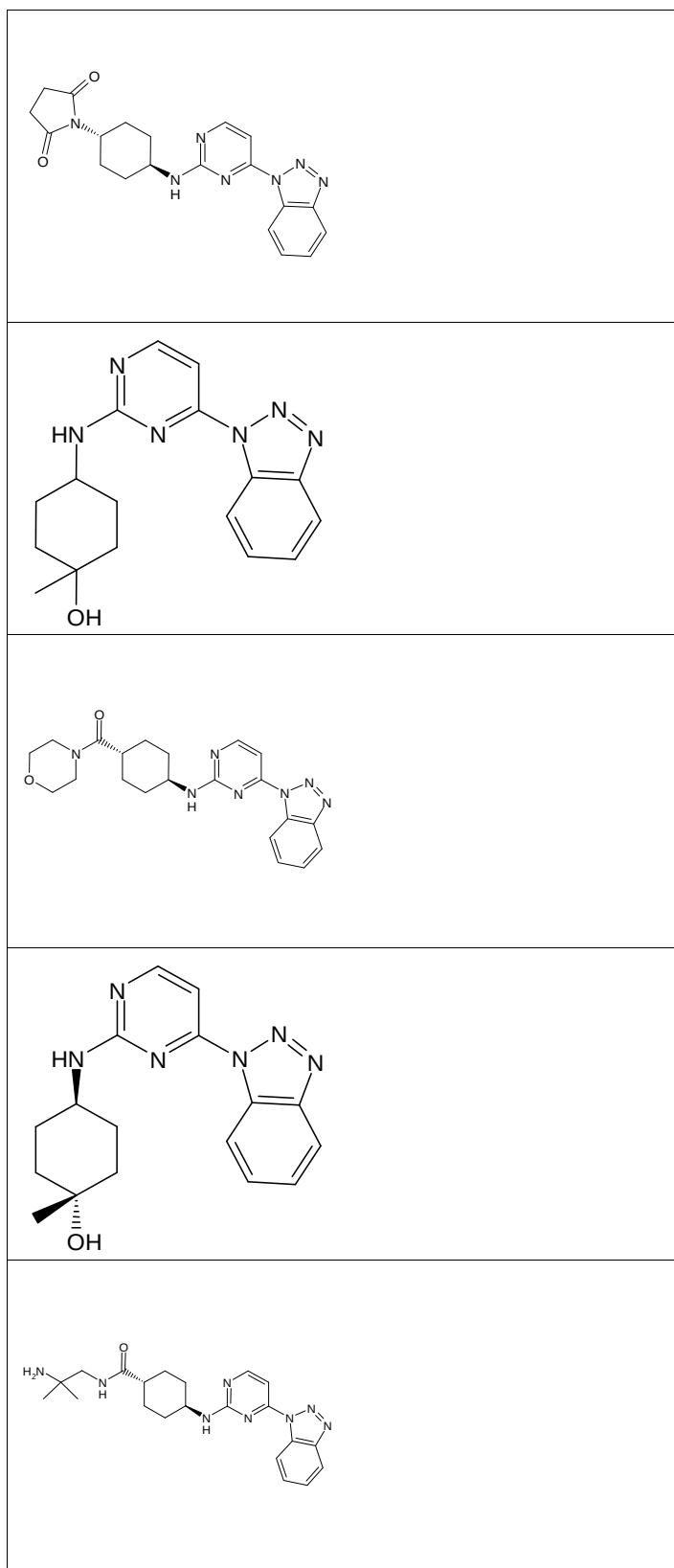
Los compuestos representativos de la invención son los recogidos en la siguiente tabla 1.

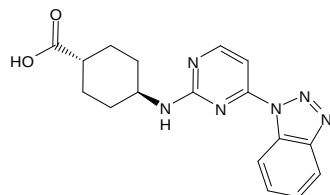
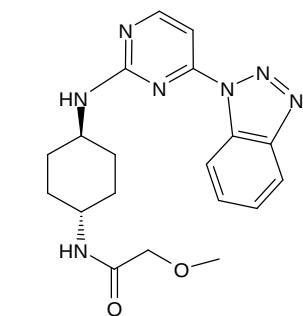
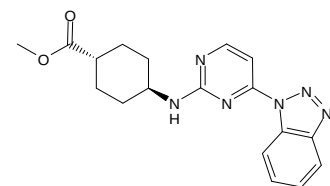
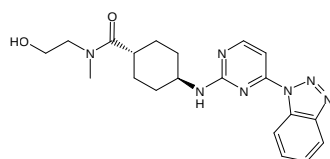
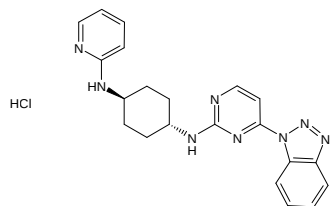
Tabla 1

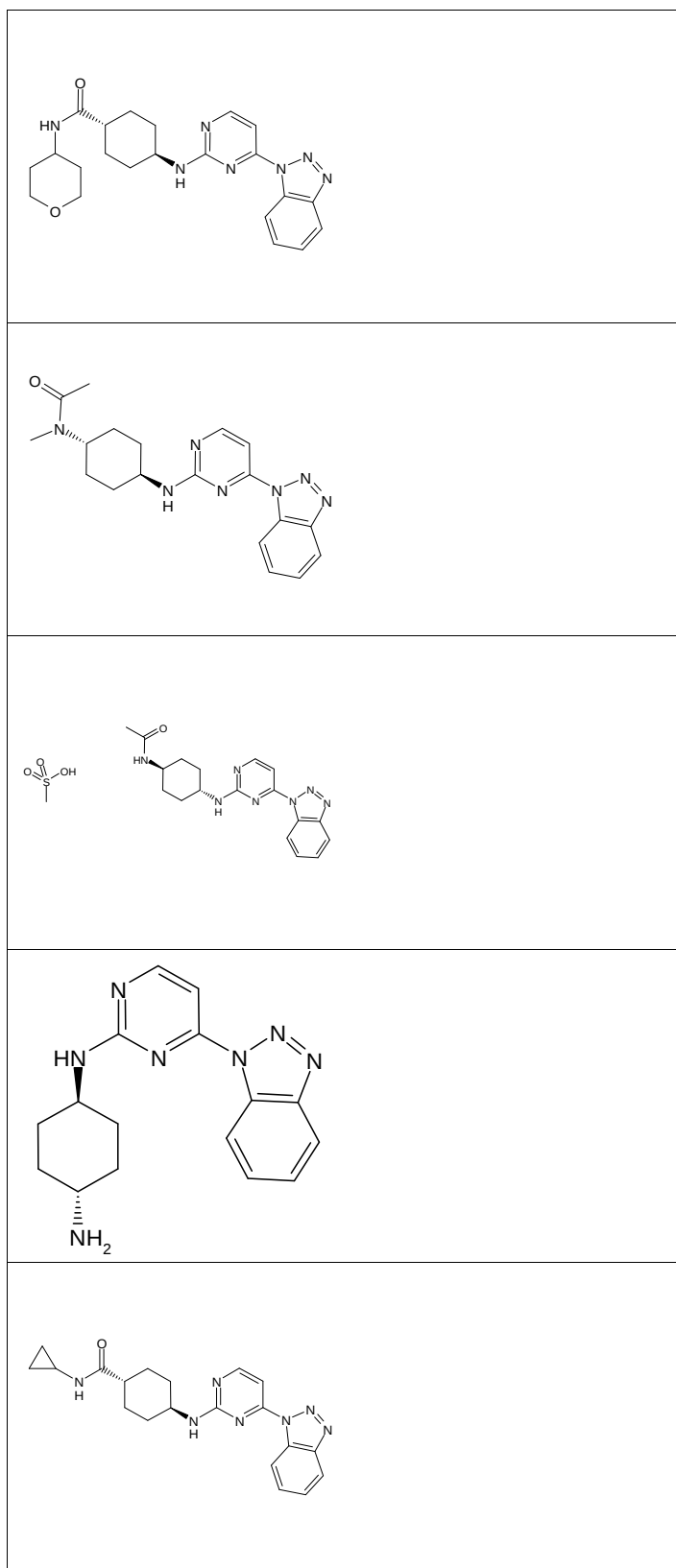
Compuestos representativos de la fórmula I.

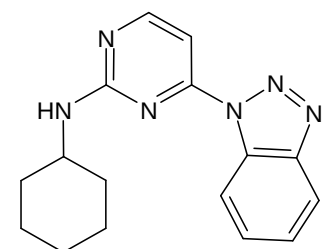
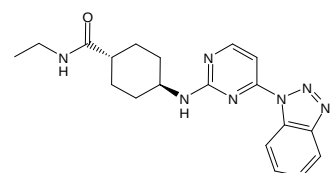
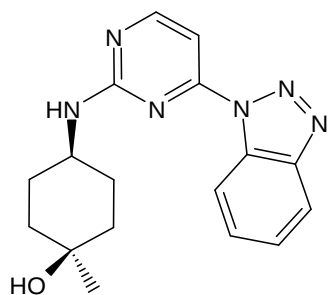
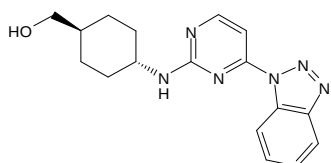
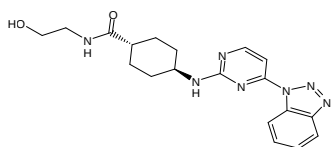






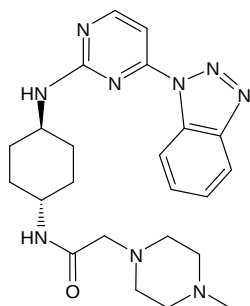
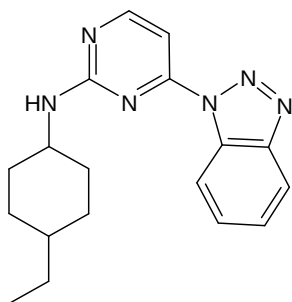
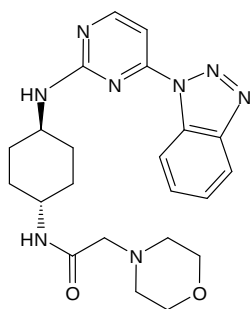
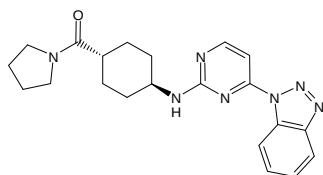
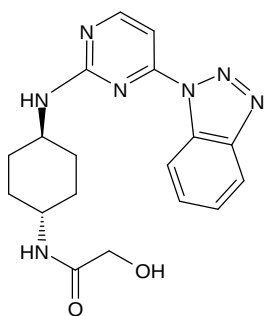


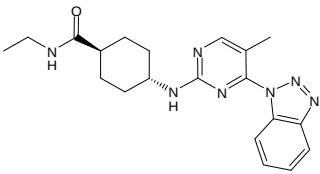
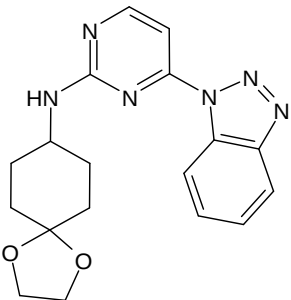
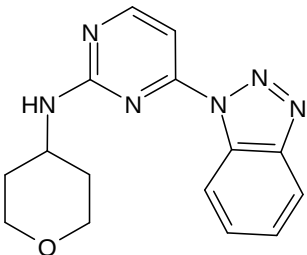
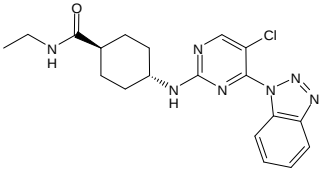
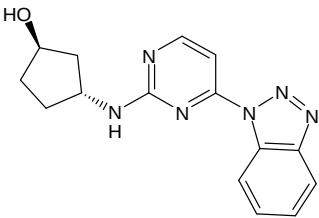


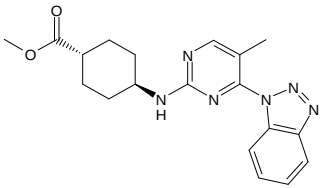
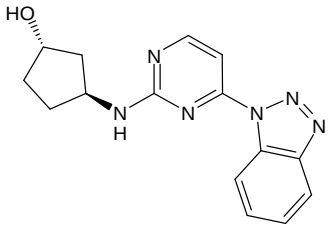
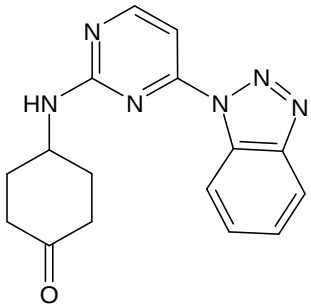
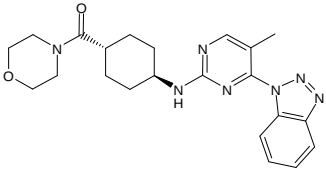
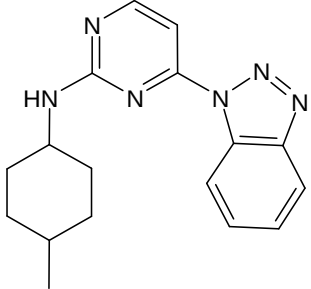


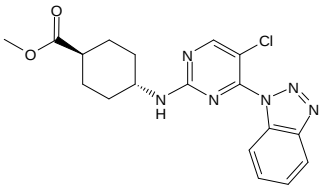
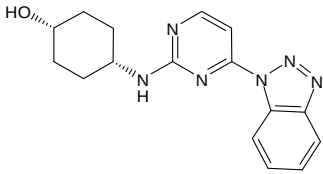
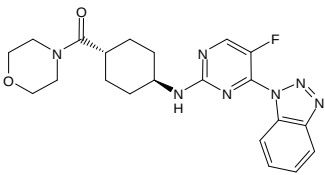
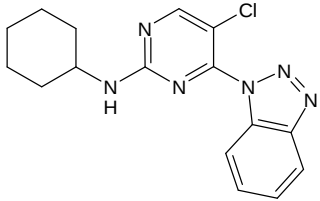
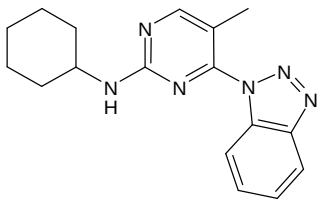


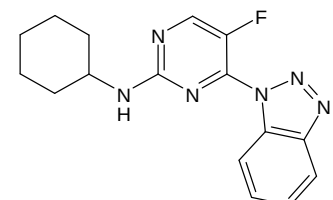
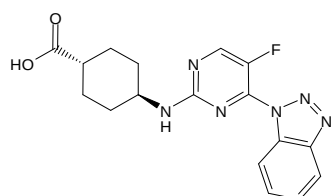
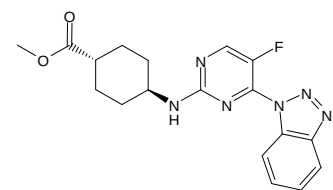
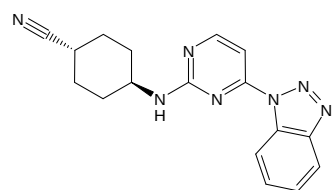
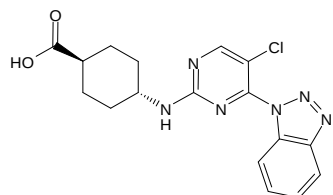


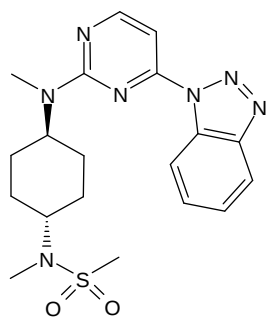
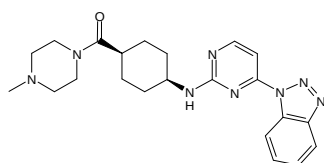
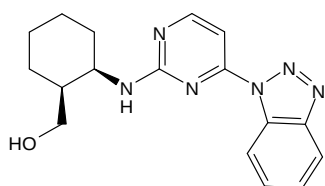
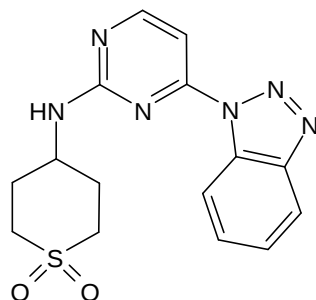
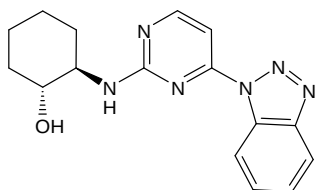


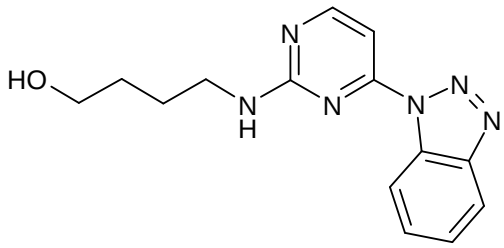
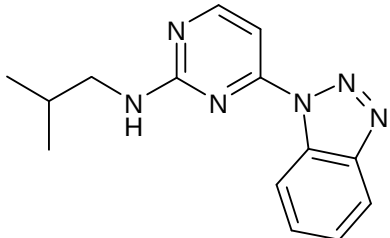
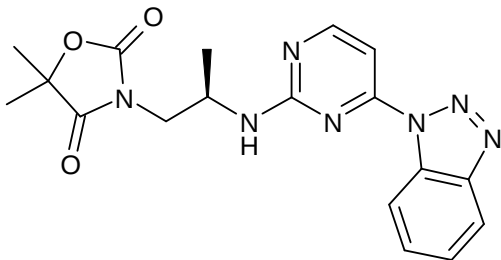
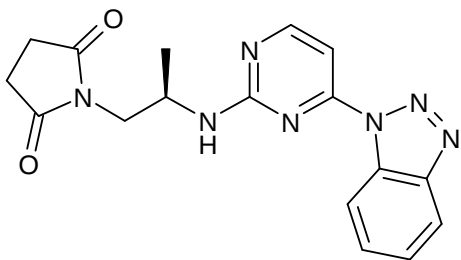
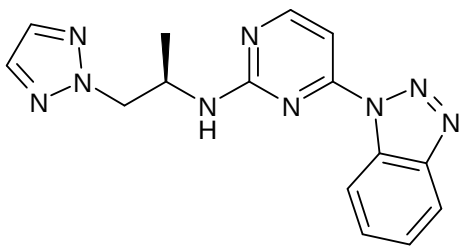






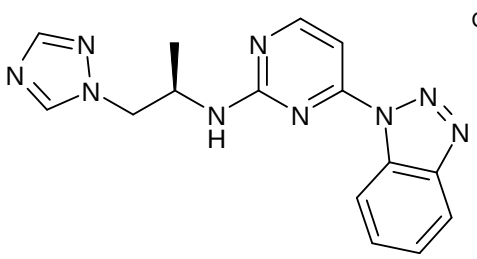
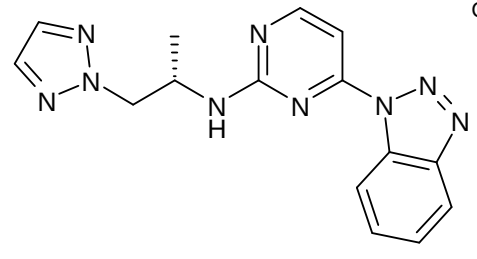
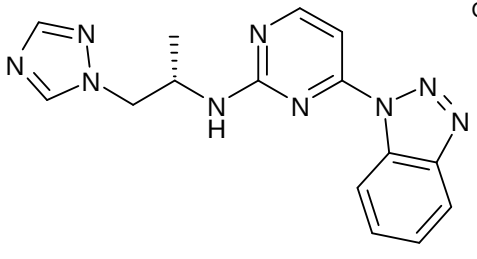
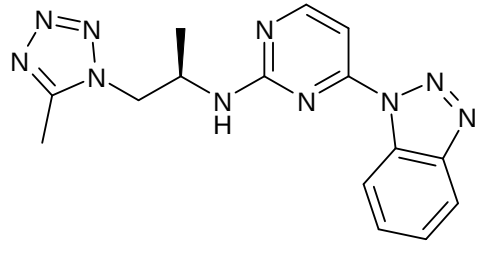
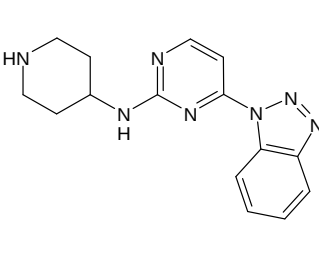
 Chemical structure of a pyrimidine derivative. It features a pyrimidine ring substituted with a methyl group at position 6 and a 1H-benzotriazin-4-yl group at position 2. The pyrimidine ring is further substituted at position 4 with a cyclohexyl group via an NH linkage. The cyclohexyl group has a methyl ester group attached at the 1-position with a dashed bond, indicating stereochemistry.
 Chemical structure of a pyrimidine derivative. It features a pyrimidine ring substituted with a 1H-benzotriazin-4-yl group at position 2 and a cyclopentyl group at position 4 via an NH linkage. The cyclopentyl group has a hydroxyl group attached at the 1-position with a dashed bond, indicating stereochemistry.
 Chemical structure of a pyrimidine derivative. It features a pyrimidine ring substituted with a 1H-benzotriazin-4-yl group at position 2 and a cyclohexyl group at position 4 via an NH linkage. The cyclohexyl group has a carbonyl group attached at the 1-position.
 Chemical structure of a pyrimidine derivative. It features a pyrimidine ring substituted with a methyl group at position 6 and a 1H-benzotriazin-4-yl group at position 2. The pyrimidine ring is further substituted at position 4 with a cyclohexyl group via an NH linkage. The cyclohexyl group has a morpholine group attached at the 1-position with a dashed bond, indicating stereochemistry.
 Chemical structure of a pyrimidine derivative. It features a pyrimidine ring substituted with a 1H-benzotriazin-4-yl group at position 2 and a cyclohexyl group at position 4 via an NH linkage. The cyclohexyl group has a methyl group attached at the 1-position.

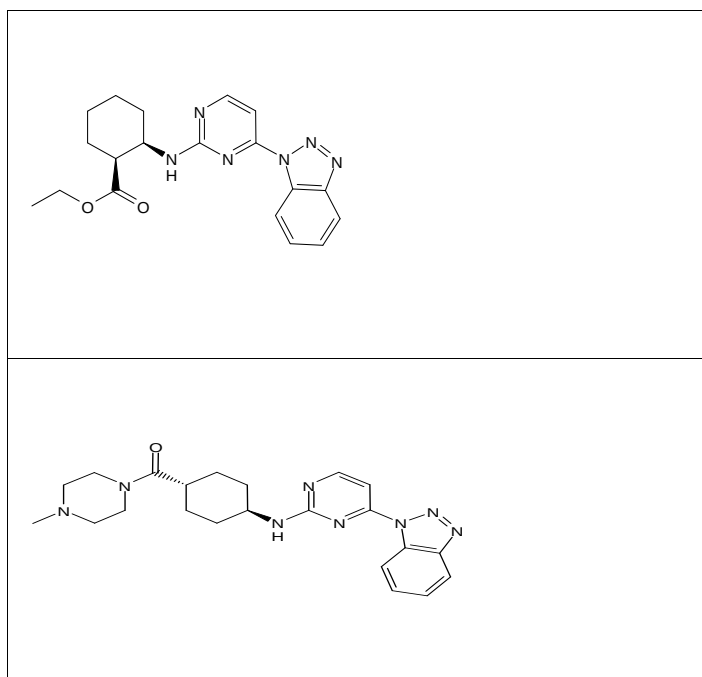










 <chem>OCCCCNC1=NC=CC(=N1)n2ccncc2</chem>	
 <chem>CCCCNC1=NC=CC(=N1)n2ccncc2</chem>	
 <chem>CC1(C)OC(=O)N(CC[C@H](C)NC1=NC=CC(=N1)n2ccncc2)C(=O)O1</chem>	Chiral
 <chem>O=C1CC[C@H](CN1CC[C@H](C)NC1=NC=CC(=N1)n2ccncc2)C(=O)O1</chem>	Chiral
 <chem>C1=CN=C(N1CC[C@H](C)NC1=NC=CC(=N1)n2ccncc2)N</chem>	Chiral

 Chiral
 Chiral
 Chiral
 Chiral


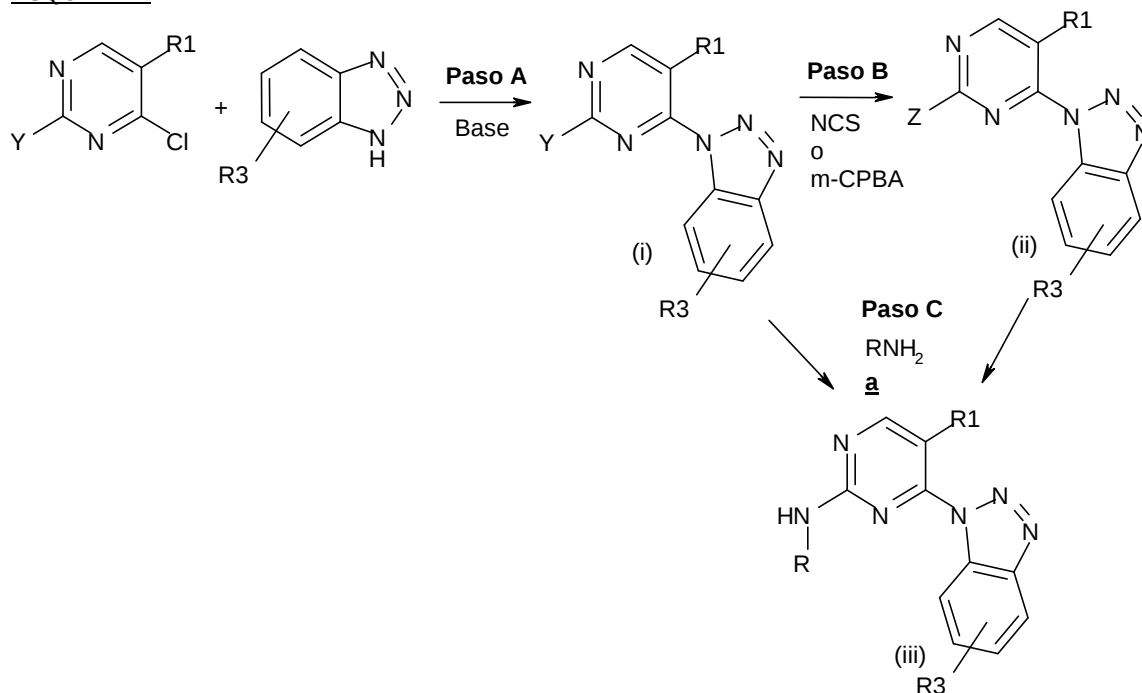


Síntesis

Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse por una gran variedad de métodos, que se describen los esquemas de reacciones de síntesis ilustrativos que siguen. Los materiales y reactivos de partida utilizados para obtener estos compuestos son por lo general productos comerciales suministrados por empresas tales como Aldrich Chemical Co., o se obtienen por métodos ya conocidos de los expertos en la materia aplicando procedimientos descritos en manuales de referencia, por ejemplo: Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Wiley & Sons: Nueva York, 1991, volúmenes 1-15; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, volúmenes 1-5 y suplementos; y Organic Reactions, Wiley & Sons: Nueva York, 1991, volúmenes 1-40. Los siguientes esquemas de reacciones de síntesis son meramente ilustrativos de algunos métodos que permiten sintetizar los compuestos de la presente invención, pudiendo introducirse diversas modificaciones en estos esquemas de reacciones de síntesis que los expertos en la materia intuirán con facilidad después de haber leído las descripciones contenidas en esta solicitud.

Los materiales de partida y los productos intermedios de los esquemas de reacciones de síntesis pueden aislarse y purificarse, si se desea, aplicando técnicas convencionales, incluidas, pero sin limitarse a ellas: la filtración, la destilación, la cristalización, la cromatografía y similares. Dichos materiales pueden caracterizarse aplicando métodos convencionales, incluidas las constantes físicas y los datos espectrales.

A menos que se especifique lo contrario, las reacciones que se describen se realizan con preferencia en una atmósfera inerte a presión atmosférica y en un intervalo de temperaturas de reacción comprendido entre -78 °C y 150 °C, con mayor preferencia entre 0 °C y 125 °C y con preferencia especial y de modo conveniente a temperatura ambiente, p.ej., a 20 °C.

ESQUEMA I:

En el esquema I, R_1 , R y R_3 y z tienen el significado definido antes, Y es Cl o SM_e y Z es $MeSO_2$ o Cl. En el paso A, una 4-cloropirimidina sustituida se somete a una reacción S_NAr con un 1H-benzotriazol de sustitución variable en presencia de una base del tipo hidruro sódico y en un disolvente aprótico polar del tipo N,N-dimetilformamida a una temperatura comprendida entre 0°C y t.amb.

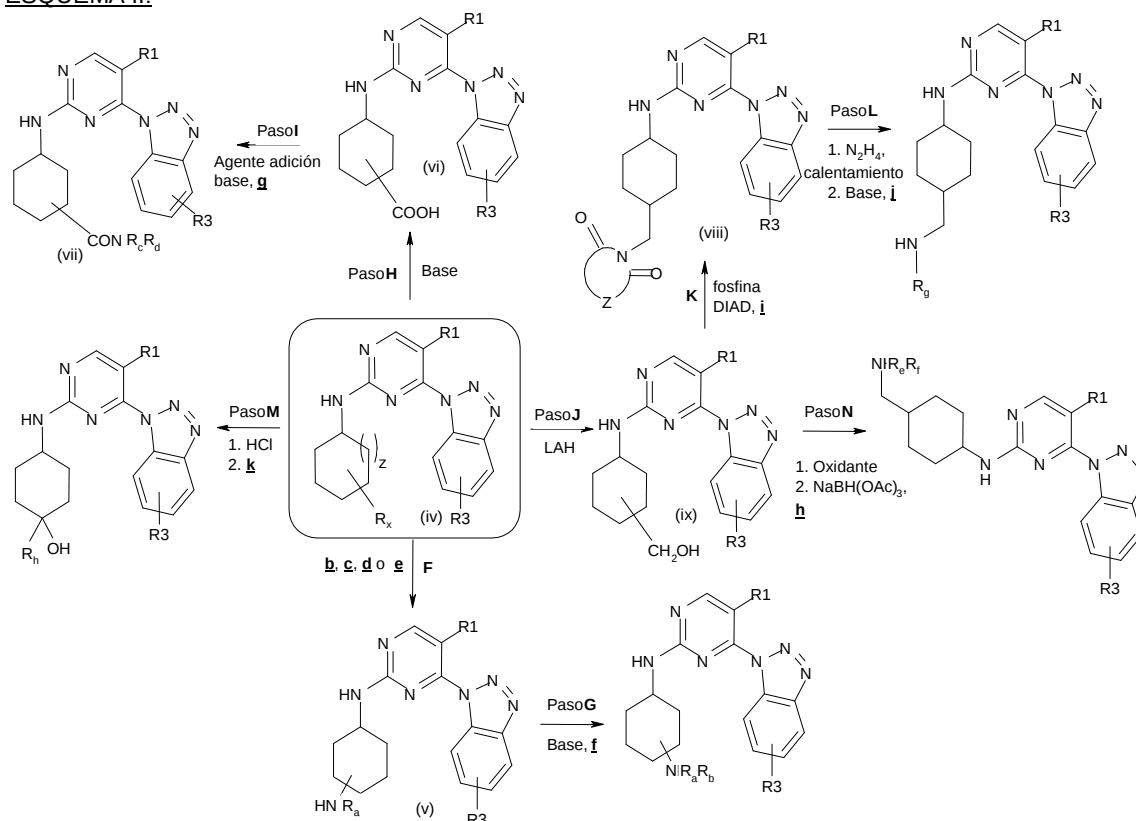
En el paso B se convierte el grupo tiometilo Y en un grupo saliente por oxidación con ácido 3-cloroperoxibenzoico en disolventes aprótico, del tipo cloroformo, o por cloración con N-clorosuccinimida.

En el paso C, se desplaza térmicamente el grupo saliente Y o Z (Cl o $MeSO_2$) con una amina primaria $\underline{a}$, por calentamiento de la mezcla en un disolvente aprótico polar del tipo 1-metil-2-pirrolidinona a una temperatura comprendida entre 100°C y 130°C o por tratamiento con una base del tipo trietilamina, a una temperatura comprendida entre t.amb. y 60°C, en un disolvente aprótico polar del tipo tetrahidrofurano. Las aminas $\underline{a}$ pueden comprender, por ejemplo: cicloalquilaminas como son las ciclohexilaminas y ciclopentilaminas de sustitución variable; alquil-aminas del tipo isobutilamina; hidroxialquilaminas por ejemplo el 4-amino-1-butanol; aminas heterocíclicas del tipo 4-aminotetrahidropirano, 4-amino-1-BOC-piperidina. Las numerosas alquil-, cicloalquil- y heterociclil-aminas de sustitución variable $\underline{a}$ son productos comerciales o pueden obtenerse fácilmente por técnicas, que los expertos en síntesis orgánica conocen bien.

Los productos pueden purificarse seguidamente, por ejemplo, por extracción, cristalización, HPLC preparativa, cromatografía flash, cromatografía de capa fina y similares.

Un compuesto de la fórmula genérica (iv) puede someterse a las transformaciones descritas en el esquema II para obtener compuestos que son objeto de esta invención.

ESQUEMA II:



En el esquema II, R_3 , R_{11} , R_8 y R_9 tienen el significado definido antes. R_a es COR_{11} , $\text{CH}_2\text{CONR}_8\text{R}_9$, SO_2R_{11} o $\text{SO}_2\text{NR}_8\text{R}_9$. R_b es alquilo, heteroalquilo, (heterociclil)alquilo. R_c y R_d son con independencia H, alquilo, cicloalquilo, alcoxialquilo, hidroxialquilo o heterociclilo. R_e y R_f son con independencia H, alquilo, cicloalquilo o heterociclilo. Z es heterociclilo. R_g es COR_{11} , SO_2R_{11} o $\text{SO}_2\text{NR}_8\text{R}_9$. R_h es alquilo o arilo.

Paso F: **b** o **c**, NMP, calentamiento o **d**, NMP, microondas o NaBH_4 , **e**, MeOH.

Paso G: NaH , **f**, NMP.

Paso H: NaOH , THF.

Paso I: **g**, BOP, DIPEA, THF.

Paso J: LAH, THF.

Paso N: 1. IBX, DMSO; 2. **h**, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, AcOH, DCE.

Paso K: PPh_3 , DIAD, **j**, PhMe.

Paso L: **j**, N_2H_4 , EtOH, calentamiento.

Paso M: 1. HCl , THF; 2. **k**, THF.

Cuando R^x es NH_2 , entonces un compuesto de la fórmula genérica (iv) puede someterse a una reacción de acilación o de sulfonilación, del modo descrito en el paso F, utilizando por ejemplo un agente acilante **b** del tipo anhídrido acético en un disolvente aprótico polar, por ejemplo la 1-metil-2-pirrolidinona, a una temperatura comprendida entre t.amb. y 70°C ; en las mismas condiciones, el compuesto (iv) puede sulfonilarse empleando, por ejemplo, el anhídrido metanosulfónico como agente sulfonilante **c**. Como alternativa, el compuesto (iv) puede someterse a una reacción de arilación empleando un haluro de heteroarilo **d**, por ejemplo, la 2-fluorpiridina, en un microondas, en un disolvente aprótico polar, por ejemplo la 1-metil-2-pirrolidinona a temperatura elevada.

Los agentes acilante y sulfonilante **b** y **c** pueden incluir por ejemplo anhídrido de alquilo, anhídridos cíclicos, cloruros de acilo y de benzoilo, anhídridos de alquilsulfonilo y cloruros de alquilsulfonilo y de benzoil-sulfonilo.

Un método alternativo para obtener los productos de la fórmula genérica (v) consiste en una reacción de aminación reductora, empleando, por ejemplo, borhidruro sódico y un aldehído **e** por ejemplo el formaldehído, en un disolvente prótico polar del tipo metanol y a continuación puede acilarse o sulfonilarse el producto aplicando las mismas condiciones que se han descrito antes. Numerosos alquil-, cicloalquil- y aril-aldehídos **e** son productos comerciales o son compuestos que pueden obtenerse fácilmente por técnicas que los expertos en síntesis orgánica conocen bien.

En el paso G se alquila una amina, amida o sulfonamida de la fórmula genérica (v) empleando una base del tipo hidruro sódico y un agente alquilante **f** del tipo yoduro de metilo en un disolvente aprótico polar, por ejemplo la 1-

metil-2-pirrolidinona. Los agentes alquilantes f pueden incluir a los haluros de alquilo, de heteroalquilo y de (heterocicli)alquilo.

5 Cuando R_x es COOMe o COOEt puede hidrolizarse un éster de la fórmula (iv) para obtener el ácido carboxílico correspondiente empleando una solución acuosa de una base inorgánica del tipo hidróxido sódico en un disolvente aprótico polar del tipo tetrahidrofurano del modo descrito en el paso H. A continuación puede hacerse reaccionar el ácido carboxílico (vi) con una amina primaria o secundaria g en presencia de un agente de adición del tipo BOP y una base del tipo diisopropiletilamina, en un disolvente aprótico polar como es el tetrahidrofurano del modo descrito en el paso I para obtener una amida de la fórmula genérica (vii). Las aminas g pueden incluir por ejemplo a las alquilaminas, alcoxilalquilaminas, hidroxialquilaminas, cicloalquilaminas y heterocicli-aminas.

15 Cuando R_x es COOEt o COOMe puede reducirse un éster de la fórmula (iv) al correspondiente alcohol por tratamiento con hidruro de litio y aluminio en un disolvente aprótico polar del tipo THF a una temperatura comprendida entre -78°C y t.amb. del modo descrito en el paso J. El alcohol de la fórmula genérica (ix) puede oxidarse al correspondiente aldehído por tratamiento con un agente oxidante del tipo ácido o-yodóxibenzoico en un disolvente aprótico polar del tipo DMSO. A continuación puede someterse el aldehído obtenido de este modo a una reacción de aminación reductora con una amina primaria o secundaria h del tipo morfolina, en presencia de triacetoxiborhidruro sódico y ácido acético glacial en un disolvente apolar, del tipo 1,2-dicloroetano (paso N). Las aminas h pueden ser por ejemplo alquilaminas, cicloalquilaminas y heterocicli-aminas. Como alternativa puede someterse al alcohol (ix) a una reacción de Mitsunobu con una imida i por ejemplo una ftalimida, en presencia de trifenilfosfina y DIAD en un disolvente aprótico apolar, por ejemplo el tolueno, del modo descrito en el paso K. Las iminas i puede ser iminas cíclicas o heterocíclicas. Un compuesto de la fórmula genérica (viii), si Z es ftalimida, puede tratarse con hidrazina en un disolvente prótico polar del tipo etanol a temperatura elevada, obteniéndose la correspondiente amina primaria, que después se acila o se sulfonila por tratamiento con un agente acilante o sulfonilante del tipo cloruro de acetilo en presencia de una base del tipo trietilamina, del modo descrito en el paso L. Los agentes acilantes y sulfonilantes pueden incluir a los cloruros de acilo y arilo, los cloruros de sulfonilo y bencenosulfonilo que son productos comerciales o son compuestos que se obtienen fácilmente por técnicas que los expertos en química orgánica sintética conocen bien.

30 Si R_x es $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$, puede convertirse un cetal (iv) en la cetona correspondiente por tratamiento con una solución acuosa de HCl en un disolvente aprótico polar del tipo tetrahidrofurano a temperatura elevada; la cetona obtenida de esta manera puede someterse a una reacción de adición con un reactivo de Grignard k en un disolvente aprótico polar del tipo tetrahidrofurano a temperatura baja, obteniéndose el alcohol terciario correspondiente, del modo descrito en el paso M. Numerosos reactivos de alquil-, cicloalquil- y aril- Grignard k son productos comerciales o compuestos que pueden obtenerse fácilmente por técnicas que los expertos en química orgánica conocen perfectamente.

Los productos pueden purificarse seguidamente, p.ej., por extracción, cristalización, HPLC preparativa, cromatografía flash, cromatografía de capa fina y similares.

Utilidad

Los compuestos de esta invención son moduladores de la CDK y la JNK y se espera que, como tales, sean eficaces para el tratamiento de un amplio abanico de trastornos mediados por la CDK y la JNK. Los ejemplos de trastornos mediados por la JNK incluyen, pero no se limitan a: trastornos autoinmunes, trastornos inflamatorios, trastornos metabólicos, enfermedades neurológicas y el cáncer. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden utilizarse para tratar uno o más trastornos de este tipo. En algunas formas de ejecución, los compuestos de la invención pueden utilizarse para tratar un trastorno mediado por la JNK, por ejemplo la artritis reumatoide, el asma, la diabetes de tipo II, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la apoplejía. Los ejemplos de trastornos mediados por la CDK incluyen pero no se limitan a: la inflamación (p.ej. la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neuro-fibromatosis, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio, las infecciones de rechazo de trasplante), las infecciones víricas (incluyendo, pero sin limitarse a ellos: el herpesvirus, el poxavirus, el virus de Epstein-Barr), las enfermedades autoinmunes (p.ej. el lupus, la artritis reumatoide, la psoriasis, la enfermedad del intestino inflamatorio), los trastornos neurodegenerativos (incluida, pero sin limitarse a ella: la enfermedad de Alzheimer) y las enfermedades neurodegenerativas (p.ej. la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la retinitis pigmentosa, la atrofia muscular espinal y la degeneración cerebral).

Administración y composición farmacéutica

60 La invención incluye composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto de la presente invención o un isómero individual, una mezcla racémica o no racémica de isómeros o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, junto con por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable y eventualmente otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos.

65 En general, los compuestos de la presente invención se administrarán en una cantidad terapéuticamente eficaz por cualquiera de los modos de administración aceptables para los agentes destinados a finalidades similares. Los

intervalos idóneos de dosificación se sitúan por ejemplo en 1-500 mg al día, con preferencia 1-100 mg al día y con preferencia especial 1-30 mg al día, en función de muchos factores, por ejemplo la gravedad de la enfermedad a tratar, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado, la vía y la forma de administración, la indicación a la que va dirigida la administración y las preferencias y la experiencia del facultativo que atiende al paciente. Una persona experta en tratar estas enfermedades será capaz de evaluar la cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente invención para una enfermedad determinada, sin necesidad de experimentar de modo innecesario y en base a sus conocimientos personales y a la descripción de esta solicitud.

Los compuestos de la presente invención se administrarán en forma de formulaciones farmacéuticas que los contienen y son idóneas para la administración oral (incluida la bucal y la sublingual), rectal, nasal, tópica, pulmonar, vaginal o parenteral (incluidas la intramuscular, intraarterial, intratecal, subcutánea e intravenosa) o en una forma idónea para la administración por inhalación o insuflación. El modo preferido de administración es en general el oral utilizando un régimen conveniente de dosis diarias que se puede ajustar a la gravedad de la dolencia.

Un compuesto o compuestos de la presente invención, junto con uno o más adyuvantes, excipientes o diluyentes convencionales, puede incorporar a la forma de las composiciones farmacéuticas y dosis unitarias. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosis unitarias pueden contener ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y las formas unitarias de dosificación pueden contener cualquier cantidad eficaz idónea del principio activo, acorde con el intervalo de dosificación diaria deseado que se vaya a aplicar. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse en forma de sólidos, por ejemplo tabletas o cápsulas rellenas, semisólidos, polvos, formulaciones para la liberación persistente o líquidos, por ejemplo soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas para uso oral; o en forma de supositorios para uso rectal o vaginal; o en forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral. Las formulaciones que contienen un (1) miligramo de principio activo o, con mayor amplitud, de 0,01 a cien (100) miligramos por tableta, son por lo tanto formas de dosificación unitaria representativas e idóneas.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse en una gran variedad de formas de dosificación para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación pueden contener un compuesto o compuestos de la presente invención o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo en calidad de principio activo. Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones sólidas incluyen los polvos, tabletas, píldoras, cápsulas, sellos (oblas huecas), supositorios y gránulos dispersables. Un excipiente sólido puede contener además una o más sustancias que actúen además como diluyentes, aromas, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes desintegrantes de tabletas o un material de encapsulado. En los polvos, el excipiente es en general un sólido finamente dividido, mezclado con el principio activo finamente dividido. En las tabletas, el principio activo se mezcla por lo general con el excipiente que tiene una capacidad aglutinante suficiente en proporciones idóneas y se compacta para adquirir la forma y tamaño deseados. Los polvos y las tabletas contienen con preferencia del uno (1) al setenta (70) por cien de principio activo. Los excipientes idóneos incluyen pero no se limitan a: carbonato magnésico, estearato magnésico, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. El término "preparación" designa la formulación del compuesto activo junto con el material de encapsulado en calidad de excipiente, dando lugar a una cápsula en la que el principio activo, con o sin excipiente, está envuelto por el excipiente, que está asociado con él. De igual manera se incluyen los sellos y las pastillas. Las tabletas, polvos, cápsulas, píldoras, sellos y pastillas pueden tener formas sólidas idóneas para la administración oral.

Otras formas idóneas para la administración oral incluyen preparaciones en forma líquida, entre las que se cuentan las emulsiones, jarabes, elixires, soluciones acuosas, suspensiones acuosas o preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse en preparaciones de forma líquida inmediatamente antes del uso. Las emulsiones pueden prepararse en soluciones, por ejemplo, en soluciones de propilenglicol acuoso o pueden contener agentes emulsionantes, por ejemplo lecitina, monooleato de sorbita o acacia. Las soluciones acuosas pueden prepararse disolviendo el componente activo en agua y añadiendo los colorantes, aromas, estabilizantes y espesantes idóneos. Las suspensiones acuosas pueden prepararse dispersando el componente activo finamente dividido en agua con un material viscoso, por ejemplo gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y otros agentes de suspensión ya conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones y, además del componente activo, pueden contener colorantes, aromas, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, solubilizantes y similares.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para la administración parenteral (p.ej. por inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en formas de dosificación unitarias en ampollas, jeringuillas pre-ensadas, recipientes de infusión de pequeño volumen o recipientes multidosis, que contienen además un conservante. Las composiciones pueden adoptar también la forma de suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, por ejemplo soluciones en polietilenglicol acuoso. Los ejemplos de excipientes aceitosos o no acuosos, diluyentes, disolventes o vehículos incluyen el propilenglicol, el polietilenglicol, los aceites vegetales (p.ej. aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables (p. ej. oleato de etilo) y pueden contener agentes de formulación, por ejemplo agentes conservantes, humectantes, emulsionantes o de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede presentarse en forma

pulverulenta, obtenida por aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización de la solución para la reconstitución antes del uso en un vehículo idóneo, p.ej. agua estéril, libre de pirógenos.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse también para la administración tópica sobre la epidermis en forma de ungüentos, cremas o lociones o en forma de emplastro (parche) transdérmico. Los ungüentos y las cremas pueden formularse por ejemplo con una base acuosa o aceitosa añadiendo agentes espesantes y/o gelificantes idóneos. Las lociones pueden formularse sobre una base acuosa o aceitosa y llevarán en general uno o más agentes emulsionantes, estabilizantes, dispersantes, agentes de suspensión, espesantes o colorantes. Las formulaciones idóneas para la administración tópica en la boca incluyen las pastillas en forma de rombos que contienen un principio activo en una base aromatizada, normalmente sucrosa y acacia o tragacanto; las pastillas que contienen el ingrediente activo en una base inerte, por ejemplo gelatina y glicerina o sucrosa y acacia; y las lociones bucales que contiene el principio activo en un excipiente líquido idóneo.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para la administración en forma de supositorios. En primer lugar se funde una cera de bajo punto de fusión, por ejemplo una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao y después se dispersa en ella de modo homogéneo el principio activo, por ejemplo, por agitación. A continuación se vierte la mezcla homogénea fundida en moldes del volumen adecuado, se deja enfriar y solidificar.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para la administración vaginal. Se conocen como adecuados en la técnica los pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizadores que, además del principio activo, contienen excipientes idóneos.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para la administración nasal. Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo, con un cuentagotas, una pipeta o un nebulizador. Las formulaciones pueden suministrar en forma de dosis individual o multidosis. En el último caso de un cuentagotas o pipeta, el uso puede efectuarse por parte del mismo paciente que se administra un volumen predeterminado adecuado de la solución o suspensión. En el caso del nebulizador, el uso puede realizarse por ejemplo mediante una bomba pulverizadora que atomice una cantidad fija, calibrada.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para la administración de tipo aerosol, en especial para el tracto respiratorio, incluida la administración intranasal. En general, el compuesto deberá tener un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo del orden de cinco (5) micras o menos. Semejante tamaño de partícula puede obtenerse por medios ya conocidos de la técnica, por ejemplo por micronización. Se suministra el principio activo en un envase presurizado que contiene un propelente idóneo, por ejemplo un hidrocarburo clorofluorado (CFC), por ejemplo, el diclorodifluorometano, el triclorofluorometano o el diclorotetrafluorometano o dióxido de carbono u otro gas apropiado. De modo conveniente, el aerosol puede contener además un tensioactivo, por ejemplo la lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse mediante una válvula calibrada. Como alternativa, los principios activos pueden suministrarse en forma de polvo seco, por ejemplo una mezcla pulverulenta que contiene el compuesto en una base polvo idónea, por ejemplo lactosa, almidón, derivados de almidón, por ejemplo hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP). El excipiente pulverulento formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosis unitaria, por ejemplo en cápsulas o cartuchos p.ej. de gelatina o en envases tipo blíster, a partir de los que puede administrarse el polvo mediante un inhalador.

Si se desea, las formulaciones pueden fabricarse con un recubrimiento entérico, adaptado a la liberación continuada o controlada del principio activo. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden formularse en dispositivos de entrega de fármaco transdérmicos o subcutáneos. Estos sistemas de entrega son ventajosos en el caso de que sea necesaria una entrega continuada y cuando es crucial la sumisión o cumplimiento de un régimen de tratamiento por parte del paciente. Los compuestos de sistemas de entrega transdérmicos se incorporan a menudo a un soporte sólido, adhesivo sobre la piel. El compuesto de interés puede combinarse además con un mejorador de penetración, p.ej. la azona (1-dodecilazacicloheptan-2-ona). Los sistemas de entrega con liberación continua se insertan de modo subcutáneo en la capa subdérmica mediante cirugía o inyección. Los implantes subdérmicos llevan encapsulado el compuesto en una membrana lipídica soluble, p.ej. caucho de silicona o un polímero biodegradable, p.ej. ácido poliláctico.

Las preparaciones farmacéuticas se presentan con preferencia en formas de dosificación unitaria. En dichas formas se subdivide la preparación en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del principio activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, el envase contiene cantidades discretas de la preparación, por ejemplo tabletas envasadas, cápsulas y polvos en viales o ampollas. La forma de dosificación unitaria puede ser también una cápsula, una tableta, un sello o incluso una pastilla, o bien puede ser un número apropiado de cualquiera de ellas en forma envasada.

Otros excipientes farmacéuticamente idóneos y sus formulaciones se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 1995, coordinado por E.W. Martin, editorial Mack Publishing Company, 19ª edición, Easton, Pennsylvania. A continuación se describen formulaciones farmacéuticas representativas que contienen un compuesto de la presente invención.

Los compuestos de esta invención pueden utilizarse en combinación (administrarse en combinación o de modo consecutivo) con otros tratamientos anticancerosos conocidos, tales como la terapia de radiación o con agentes citostáticos o citotóxicos, por ejemplo, pero sin limitarse a ellos: los agentes interactivos con el DNA, por ejemplo el cisplatino o la doxorubicina; los inhibidores de la topoisomerasa II por ejemplo el etopósido; los inhibidores de la topoisomerasa I como el CPT-11 o topotecan; los agentes que interaccionan con la tubulina, por ejemplo el paclitaxel, docetaxel o epotilones; los agentes hormonales del tipo tamoxifeno; los inhibidores de la timidilato-sintasa, por ejemplo el 5-fluoruracilo; y los anti-metabolitos del tipo metotrexato. Los compuestos de la fórmula I pueden ser también útiles en combinación con moduladores de la transactivación del p53.

Si se formulan como dosis fija, los productos de combinación recién descritos incluyen a los compuestos de esta invención dentro del intervalo de dosificación antes descrito y el otro agente farmacéuticamente activo o tratamiento dentro del intervalo de dosis ya aprobado. Por ejemplo, se ha encontrado de un inhibidor temprano de la cdk1, la olomucina, actúa con efectos sinérgicos con agentes citotóxicos bien conocidos para inducir la apoptosis (J. Cell Sci. 108, 2897-904, 1995). Los compuestos de la fórmula I may pueden administrarse también sucesivamente con agentes anticancerosos o citotóxicos ya conocidos, cuando la administración concomitante o la combinación resulte ser inapropiada. Esta invención no está limitada en la secuencia de administración: los compuestos de la fórmula I pueden administrarse antes o después de la administración de los agentes anticancerosos o citotóxicos conocidos. Por ejemplo, la actividad citotóxica del inhibidor de la cdk, el flavopiridol, resulta afectada por el orden de administración con agentes anticancerosos (Cancer Res. 57, 3375, 1997).

Las propiedades farmacológicas de los compuestos de esta invención pueden confirmarse con un gran número de ensayos farmacológicos. Los ensayos farmacológicos ejemplificados que siguen se realizan con los compuestos de la invención y sus sales. Los compuestos de la invención presentan una actividad de cdk4/ciclina D con valores IC_{50} y valores K_i inferiores a $1,0 \mu M$. Además, la potencia antiproliferante de algunos compuestos de la invención se ha ensayado en la línea celular del tumor de colon humano HCT116, obteniéndose en un ensayo MTT valores de IC_{90} inferiores a $30 \mu M$, con preferencia inferiores a $5 \mu M$.

Los objetos, ventajas adicionales y nuevas características de esta invención resultarán evidentes a los expertos en la materia cuando examinen los ejemplos que siguen, que se presentan sin carácter limitante.

Ejemplos

Lista de abreviaturas

BOP hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio

DCE 1,2-dicloroetano

DCM diclorometano/cloruro de metileno

DIPEA diisopropiletilamina

DMFN, N-dimetilformamida

DIAD azodicarboxilato de diisopropilo

DMSO sulfóxido de dimetilo

EtOAc acetato de etilo

LAH hidruro de litio y aluminio

IBX ácido o-yodóxibenzoico

m-CPBA ácido 3-cloroperoxibenzoico

MeOH metanol

MsCl cloruro de metanosulfonilo

MW microondas

NCSN-clorosuccinimida

NMP 1-metil-2-pirrolidinona

t.amb. temperatura ambiente

STABH triacetoxiborhidruro sódico

TEA trietilamina

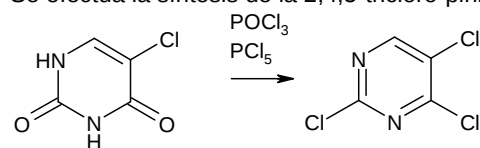
THF tetrahidrofurano

CCF cromatografía de capa fina

Ejemplo 1

Síntesis de la 2,4,5-tricloro-pirimidina

Se efectúa la síntesis de la 2,4,5-tricloro-pirimidina con arreglo al procedimiento descrito en el esquema A.



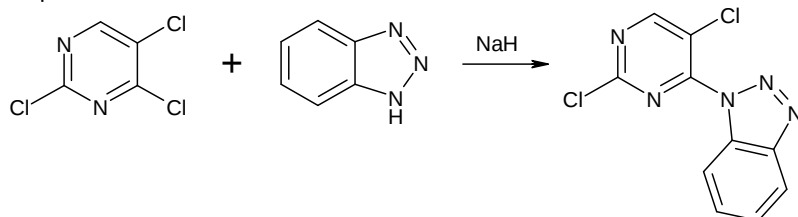
ESQUEMA A

Se disuelve el 5-clorouracilo (4,5 g, 30,82 mmoles) en oxiclورو de fósforo (100 ml) y se le añade el pentacloruro de fósforo (19,2 g, 92,46 mmoles). Se calienta la mezcla reaccionante a reflujo durante una noche; después se enfría a t.amb. y se evapora el disolvente a presión reducida. Se enfría el residuo a 0 °C y se le añade cuidadosamente hielo en escamas. Se agita la mezcla resultante durante 10 minutos; se reparte entre agua y DCM. Se separa la fase orgánica y se lava 3 veces con agua. Se reúnen las fases acuosas y se extraen dos veces con DCM. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran a presión reducida, obteniéndose 6 g (rendimiento: 95 %) de la 2,4,5-tricloro-pirimidina en forma de aceite amarillo sin más purificaciones.

Ejemplo 2

Síntesis del 1-(2,5-dicloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol

La síntesis del 1-(2,5-dicloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema B.



ESQUEMA B

Se añade lentamente a 0°C y en atmósfera de nitrógeno una solución de benzotriazol (2,14 g, 18,03 mmoles) en DMF (10 ml) a una solución de NaH (al 60 % en aceite mineral, 0,850 g, 21,3 mmoles) en DMF (20 ml). Se agita la mezcla reaccionante a 0°C durante 15 minutos; después se le añade lentamente a 0°C una solución de 2,4,5-tricloropirimidina (3 g, 16,39 mmoles) en DMF (20 ml). Se deja que la mezcla reaccionante vuelva a t.amb. con agitación durante una noche. Se evapora el disolvente a presión reducida; se recoge el residuo con EtOAc y se lava 3X con agua. Se reúnen las fases acuosas y se extraen 3 veces con EtOAc. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtra y se concentran a presión reducida, obteniéndose un aceite en bruto. Se purifica este material mediante cromatografía flash (heptano/ EtOAc, 8/2), obteniéndose 1,5 g (rendimiento: 34 %) del 1-(2,5-dicloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol.

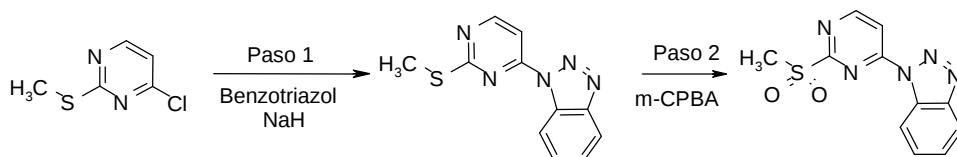
Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar utilizando una cloropirimidina apropiada:

1-(2-cloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol;
1-(2-cloro-5-fluor-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol; y
1-(2-cloro-5-metil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol.

Ejemplo 3

Síntesis del 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol

La síntesis del 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema C.



ESQUEMA C

Paso 1: síntesis del 1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol

En un matraz de fondo redondo y 1 l de capacidad se introducen una dispersión de hidruro sódico (10,0 g, 250 mmoles, al 60 % en aceite mineral) y 200 ml de DMF y se enfría la suspensión resultante en un baño de hielo. Se añade el benzotriazol (18,02 g, 151 mmoles) en porciones durante un período de 10-12 min. Se agita la mezcla reaccionante durante 10 min para que se calme el desprendimiento de gas; se retira el baño de hielo y se añade la 4-cloro-2-metilpirimidina (24,07 g, 150 mmoles). Se agita la mezcla resultante a t.amb. durante 15 minutos, después se coloca en un baño de aceite a 90 °C durante 1,5 horas. Se aparta el baño de calentamiento y se deja enfriar lentamente la mezcla reaccionante con agitación durante una noche. Se vierte la mezcla reaccionante sobre 500 ml de agua, se agita durante 20 min y después se filtra. Se recogen los sólidos, se lavan con 3 porciones de agua y 3 porciones de una mezcla de hexanos/EtOAc (de 10:1 a 5:1) y después se seca, obteniéndose el 1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol en forma de sólido blanco mate (27,05 g, rendimiento: 74 %), p.f. = 180,5-181,7 °C; EM = 244 (M+H)⁺.

Paso 2: síntesis del 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol

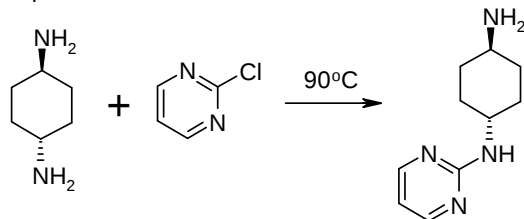
En un matraz de fondo redondo y 2 l de capacidad se suspende/disuelve el 1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (27,05 g, 111 mmoles) en 600 ml de CHCl₃. Se enfría la mezcla con un baño de hielo y se le añade

lentemente, en porciones, el m-CPBA (58,03 g, 259 mmoles, aprox. 77%), manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 15 °C. Se calienta lentamente la mezcla reaccionante a t.amb. y se agita durante 16 horas, después se mantiene en ebullición a reflujo durante 1 hora. Se enfría y se trata con una solución acuosa de tiosulfato sódico; se separa la fase orgánica y se lava con 3 porciones de bicarbonato sódico acuoso. Se seca con sulfato sódico, se filtra y se concentra a presión reducida hasta que se forma una suspensión, que se filtra y se seca, obteniéndose el 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol en forma de sólido blanco (20,78 g, rendimiento: 68 %), p.f. = 201,8-202,5 °C; EM = 276 (M+H)⁺.

Ejemplo 4

Síntesis de la N-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina

La síntesis de la N-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema D.



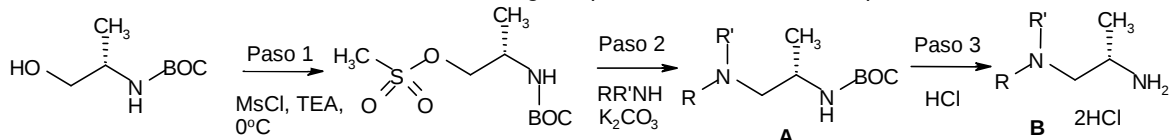
ESQUEMA D

A una solución del trans-1,4-diaminociclohexano (10,10 g, 88 mmoles) en dioxano/MeOH (40 ml/40 ml) a 90°C se le añade lentamente una solución de 2-cloropirimidina (3,14 g, 45 mmoles) en dioxano/MeOH (40 ml/40 ml). Se mantiene la mezcla reaccionante en ebullición a reflujo durante una noche, después se enfría y se filtra la suspensión formada. Se concentra el líquido filtrado a presión reducida formándose otra suspensión, que se filtra de nuevo. Se recogen los líquidos se reparten entre EtOAc y una solución acuosa de NaHCO₃. El producto se mantiene en la fase acuosa y se extrae con 3 porciones de CH₂Cl₂, se seca con Na₂SO₄ y se filtra; se evapora el disolvente a presión reducida. Se recristaliza el residuo en bruto en hexanos/CH₂Cl₂ (1/1) y se seca, obteniéndose la N-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina en forma de sólido blanco mate (1,20 g, rendimiento: 14 %), p.f. = 126,9-128,4 °C; EM = 193 (M+H)⁺.

Ejemplo 5

Síntesis de aminas

La síntesis de varias aminas se efectúa con arreglo al proceso descrito en el esquema E.



ESQUEMA E

Paso 1: Síntesis del metanosulfonato de (S)-2-tert-butoxicarbonilamino-propilo

En atmósfera de nitrógeno se disuelve el 2-(S)-Boc-amino-propanol (10 g, 57,1 mmoles, 1,00 equivalentes) en DCM (200 ml); y se le añade a t.amb. la trietilamina (7,49 g, 10,32 ml, 74,2 mmoles, 1,30 eq.). Se enfría la mezcla reaccionante a 0 °C y en atmósfera de nitrógeno se le añade el cloruro de mesilo (7,39 g, 4,99 ml, 64,5 mmoles, 1,13 eq.). Se agita la mezcla resultante a 0 °C durante 3 horas, se lava 3 veces con H₂O (100 ml), se reúnen las fases acuosas y se extraen 3 veces con DCM (50 ml). Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran, obteniéndose el metanosulfonato de (S)-2-tert-butoxicarbonilamino-propilo en forma de sólido blanco (14,17 g, rendimiento: 98 %). RMN-H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 4,56 - 4,70 (1 H, m), 4,17 - 4,27 (1 H, m), 4,10 - 4,17 (1 H, m), 3,89 - 4,02 (1 H, m), 2,97 - 3,05 (3 H, m), 1,38 - 1,47 (9 H, m), 1,22 (3 H, d, J = 6,85 Hz).

De igual manera se obtiene el metanosulfonato de (R)-2-tert-butoxicarbonilamino-propilo (sólido blanco) empleando como material de partida el 2-(R)-boc-2-amino-propanol (rendimiento = 14,09 g, 97 %); RMN-H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 4,55 - 4,67 (1 H, m), 4,17 - 4,27 (1 H, m), 4,11 - 4,17 (1 H, m), 3,90 - 4,02 (1 H, m), 3,02 (3 H, s), 1,43 (9 H, s), 1,22 (3 H, d, J = 6,85 Hz).

Paso 2: Síntesis de la amina A

En atmósfera de nitrógeno se disuelve el metanosulfonato de (S)-2-tert-butoxicarbonilamino-propilo (1,00 g, 3,94 mmoles, 1 eq.) en DMF (16 ml) y se le añaden a t.amb. el K₂CO₃ (1,09 g, 7,89 mmoles, 2 eq.) y la amina apropiada de la fórmula RR'NH (3,95 mmoles, 1 equiv.). Se agita la mezcla reaccionante a 90 °C durante 1 hora. Se concentra la mezcla resultante, obteniéndose un sólido en bruto que se disuelve con una mezcla 1:1 de iPrOH/CHCl₃, se lava dos veces con H₂O (10 ml). Se reúnen las fases acuosas, se extraen 3 veces con una mezcla 1:1 de iPrOH/CHCl₃ (20 ml). Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran, obteniéndose la amina deseada en bruto.

Se lleva a cabo reacciones similares de los derivados (S)- y (R)-boc-amino-mesilato y con las aminas siguientes para obtener los productos correspondientes: succinimida; 2-pirrolidiona; 5,5-dimetiloxazolidina-2,4-diona; 5-metil-1H-tetrazol; 1,2,3-triazol; 1,2,4-triazol; 4-imidazol-carboxilato de metilo; y 1,2,3-triazol-3-carboxilato de metilo.

Se registran los espectros RMN- H^1 de las mezclas en bruto. Estos derivados boc-amino se utilizan en el paso siguiente sin purificación.

Paso 3: Síntesis de la amina B

Se disuelve el derivado (S)-boc-amino A (3,5 mmoles, 1 equivalente) en una solución de HCl 4N en 1,4-dioxano (5 ml). Se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante 18 horas. Se concentra la mezcla reaccionante a presión reducida, obteniéndose un sólido en bruto, que se emplea en el paso siguiente sin más purificación.

Aplicando este procedimiento se obtienen las aminas siguientes:

3-((R)-2-amino-propil)-5,5-dimetil-oxazolidina-2,4-diona;

1-((R)-2-amino-propil)-pirrolidina-2,5-diona;

(R)-1-metil-2-[1,2,3]triazol-2-il-etilamina;

(R)-1-metil-2-[1,2,4]triazol-1-il-etilamina;

1-((S)-2-amino-propil)-pirrolidina-2,5-diona;

(S)-1-metil-2-[1,2,3]triazol-2-il-etilamina;

(S)-1-metil-2-[1,2,4]triazol-1-il-etilamina; y

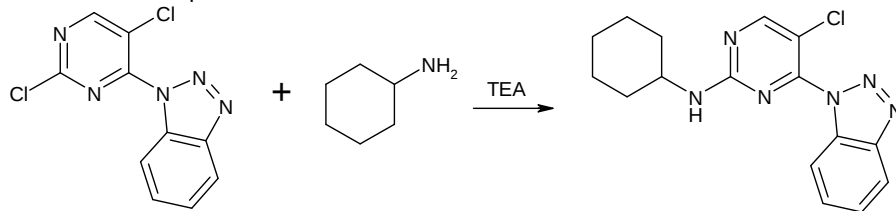
(R)-1-metil-2-(5-metil-tetrazol-1-il)-etilamina.

Ejemplos de conformidad con el invento

Ejemplo 6

Síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina

La síntesis de (4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema F.



ESQUEMA F

En atmósfera de nitrógeno y a t.amb. se añade en porciones la ciclohexilamina (0,21 ml, 1,88 mmoles) a una solución de 1-(2,5-dicloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (250 mg, 0,94 mmoles) en THF (30 ml). Se agita la solución incolora resultante a t.amb. durante 4 horas. Después se le añade la TEA (2,82 mmoles) y se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante una noche. Se reparte la mezcla entre agua (50 ml) y EtOAc (50 ml). Se separa la fase orgánica, se lava dos veces con agua (50 ml) y una vez con salmuera (50 ml), se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se concentra a presión reducida, obteniéndose un sólido blanco mate. Se purifica este material en bruto por cromatografía flash (tolueno/EtOAc, 98/2), obteniéndose 162 mg (rendimiento: 53 %) de la (4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina en forma de sólido blanco mate. EM = 329,14 ($M+1$)⁺, 301,14 (($M+1$)⁺-28).

Se obtienen los compuestos siguientes aplicando un procedimiento similar y utilizando aminas y derivados de pirimidina apropiados:

trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexanocarbonitrilo; EM = 320,15 ($M+1$)⁺, 292,18 (($M+1$)⁺-28);

(4-benzotriazol-1-il-5-metil-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina; EM = 309,23 ($M+1$)⁺, 281,24 (($M+1$)⁺-28);

(4-benzotriazol-1-il-5-fluor-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina; EM = 313,17 ($M+1$)⁺, 285,21 (($M+1$)⁺-28);

3-[(R)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-propil]-5,5-dimetil-oxazolidina-2,4-diona; EM = 381,94 ($M+1$), 353,98 (($M+1$)⁺-28);

1-[(R)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-propil]-pirrolidina-2,5-diona; EM = 351,96 ($M+1$), 324,01 (($M+1$)⁺-28);

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-((R)-1-metil-2-[1,2,3]triazol-2-il-etil)-amina; EM = 321,99 ($M+1$), 293,98 (($M+1$)⁺-28);

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-((R)-1-metil-2-[1,2,4]triazol-1-il-etil)-amina; EM = 321,99 ($M+1$), 293,98 (($M+1$)⁺-28);

1-[(S)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-propil]-pirrolidina-2,5-diona; EM = 351,96 ($M+1$), 324,1 (($M+1$)⁺-28);

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-((S)-1-metil-2-[1,2,3]triazol-2-il-etil)-amina; EM = 321,99 ($M+1$), 293,98 (($M+1$)⁺-28);

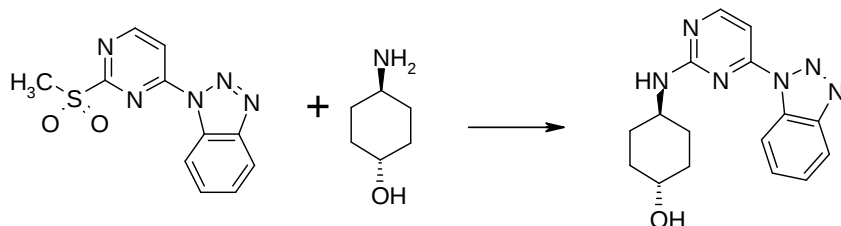
(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-[(R)-1-metil-2-(5-metil-tetrazol-1-il)-etil]-amina; EM = 337,16 ($M+1$)⁺, 309,13 (($M+1$)⁺-28); y

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-((S)-1-metil-2-[1,2,4]triazol-1-il-etil)-amina; EM = 322,17 ($M+1$), 294,15 (($M+1$)⁺-28).

Ejemplo 7

Síntesis del trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexanol

La síntesis del trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanol se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema G.



ESQUEMA G

5

A una solución de 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (1,59 g, 6 mmoles) en 15 ml de NMP se le añade el trans-4-aminociclohexano (3,11 g, 27 mmoles) y se agita la mezcla resultante a 120 °C durante 2 horas. Se enfría, se vierte sobre 100 ml de agua, se agita y se deja en reposo durante una noche. Se filtra la suspensión resultante, se recogen los sólidos, se lavan con agua y se disuelven con CH₂Cl₂; se elimina el disolvente a presión reducida. Se recoge el residuo sólido formado con EtOAc, se filtra y se seca, obteniéndose el trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanol en forma de sólido blanco (910 mg, rendimiento: 51 %), p.f. = 224,8-228,1 °C; EM = 311 (M+H)⁺.

10

Los compuestos siguientes se obtienen aplicando un procedimiento similar y empleando las aminas apropiadas:

15 cis-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanol (sólido blanco); p.f. = 220,0-221,0 °C; EM = 311 (M+H)⁺;
trans-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanol (sólido cristalino blanco); p.f. = 166,9-169,3 °C; EM = 311 (M+H)⁺;

15

(1R,3R)-3-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclopentanol (sólido blanco); p.f. = 194,5-196,5 °C; EM = 297 (M+H)⁺;

20

(1S,3S)-3-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclopentanol (sólido blanco); p.f. = 194,1-195,9 °C; EM = 297 (M+H)⁺;

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-etil-ciclohexil)-amina (sólido blanco); p.f. = 191,2-191,7 °C; EM = 323 (M+H)⁺;

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-piperidin-4-il-amina (sólido blanco, obtenido a partir del carbamato de tert-butilo por desprotección estándar del 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-piperidina-1-carboxilato de tert-butilo; que se

25

obtiene empleando el 4-amino-1-piperidinacarboxilato de tert-butilo); p.f. = 230,1-233,9 °C; EM = 296 (M+H)⁺;

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-metil-ciclohexil)-amina (sólido blanco); p.f. = 192,5-196,0 °C; EM = 309 (M+H)⁺;

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(trans-4-metoxi-ciclohexil)-amina (sólido blanco) (la 4-metoxi-ciclohexilamina se

30

obtiene a partir de la 4-metoxi-ciclohexanona-oxima del modo descrito en J. Org. Chem. 50, 1160, 1985, que se obtiene a partir de la 4-metoxi-ciclohexanol del modo descrito en J. Med. Chem. 20, 289, 1977, que se obtiene a

partir del 4-metoxi-ciclohexanol del modo descrito en J. Med. Chem. 32, 355, 1989); p.f. = 184,0-186,9 °C; EM = 325 (M+H)⁺;

N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-N'-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina (sólido blanco) (se obtiene la N-

35

pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina del modo descrito en la obtención 4); p.f. = 286,0-286,4 °C; EM = 388 (M+H)⁺;

N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-N'-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina, sal bis-metanosulfonato, que se

40

obtiene añadiendo un exceso de ácido metanosulfónico a una solución de N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-N'-pirimidin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina-bis-metano (150 mg) en 100 ml de CH₂Cl₂ y aproximadamente 20 ml de MeOH. Se concentra la mezcla resultante y se recrystaliza en CH₂Cl₂/EtOAc. Se filtra el sólido y se seca, obteniéndose la sal del ácido metanosulfónico en forma de sólido blanco (214 mg, rendimiento: 95 %); p.f. = 282,6-288,9 °C; EM = 388 (M+H)⁺.

De modo similar se obtiene la sal del ácido metanosulfónico de los compuestos siguientes:

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-amina (sólido blanco); p.f. = 207,9-209,0 °C; EM = 353 (M+H)⁺;

45

(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(tetrahidro-piran-4-il)-amina (cristales blancos en forma de agujas finas); p.f. = 202,0-202,4 °C; EM = 297 (M+H)⁺; y

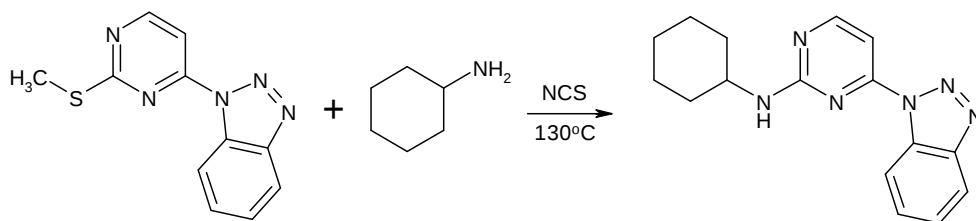
(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(1,1-dioxa-hexahidro-1λ⁶-tiopiran-4-il)-amina (polvo blanco); p.f. = 268,5-270,2 °C; EM = 345 (M+H)⁺.

Ejemplo 8

Síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina

La síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema H.

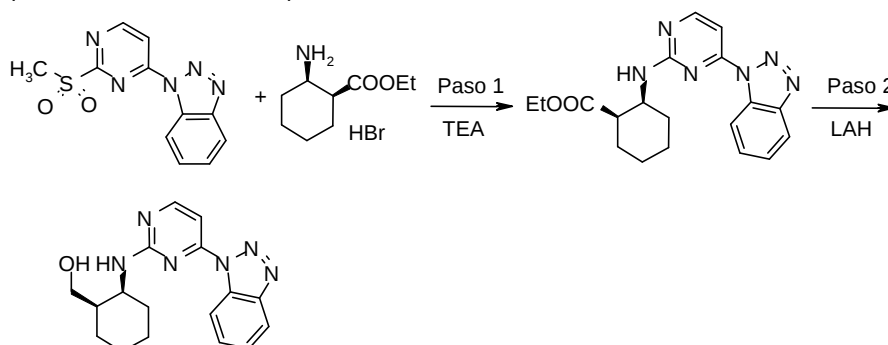
50

**ESQUEMA H**

- 5 A una solución de 1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (376 mg, 1,5 mmoles) en 4 ml de NMP se le añaden la N-clorosuccinamida (250 mg, 1,9 mmoles) y 0,5 ml de agua. Se coloca la mezcla en un baño de aceite a 130 °C durante 5-10 minutos, después se le añade la ciclohexilamina (450 mg, 5 mmoles) y se agita la mezcla reaccionante en un baño de aceite a 130 °C durante 30 minutos. Se enfría la mezcla reaccionante y se reparte entre agua (40 ml) y EtOAc (40 ml). Se separa la fase orgánica y se lava dos veces con agua (40 ml), después se seca con Na₂SO₄, se filtra y se elimina el disolvente a presión reducida. Se purifica el residuo en bruto por cromatografía flash y se recrystaliza en CH₂Cl₂/EtOAc, obteniéndose la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexil-amina en forma de sólido cristalino blanco de agujas pequeñas (255 mg, rendimiento: 56 %). p.f. = 202,0-204,0 °C; EM = 295 (M+H)⁺.

Ejemplo 9

- 15 **Síntesis del (1S,2R)-[2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol**
La síntesis del (1S,2R)-[2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema I.

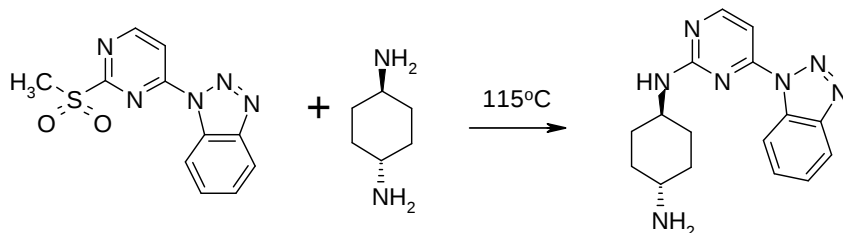
**ESQUEMA I**

- 20 **Paso 1: Síntesis de cis-(1S,2R)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de etilo**
Se añaden el bromhidrato del (1S,2R)-cis-2-amino-1-ciclohexanocarboxilato de etilo (0,41 g, 1,62 mmoles) y trietilamina (0,30 ml, 2,16 mmoles) a una solución de 1-(2-metanosulfonil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (0,30 g, 1,09 mmoles) en 2 ml de NMP. Se agita la mezcla reaccionante a 120°C durante 45 minutos y después se vierte sobre 50 ml de acetato de etilo. Se separa la fase orgánica, se lava con agua, se seca con Na₂SO₄ y se filtra; se evapora el disolvente a presión reducida. Se tritura el residuo en bruto con una solución de metanol y diclorometano; se filtra y se seca, obteniéndose el cis-(1S,2R)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de etilo en forma de sólido blanco mate (0,22 g, rendimiento: 55 %); p.f. = 106,3-107,9 °C; EM = 367 (M+H)⁺.
- 25 **Paso 2: Síntesis del (1S,2R)-[2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol**
Se añade por goteo el hidruro de litio y aluminio (1,0 M en THF, 0,52 ml, 0,52 mmoles) a una solución enfriada a -78 °C de cis-(1S,2R)-2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de etilo (0,19 g, 0,52 mmoles) en 5 ml de THF. Se agita la mezcla reaccionante durante 2 horas, después se calienta a t.amb. durante un período de 10 minutos. Después de la purificación estándar de Fieser (1:1:3 H₂O, NaOH del 15%, H₂O), se mantiene la mezcla reaccionante en agitación a t.amb. durante unas 18 horas. Se añade el acetato de etilo y se filtra la mezcla. Se concentra el líquido filtrado a presión reducida, se disuelve el residuo en cloroformo, se filtra a través de un lecho de Celite, se concentra a presión reducida y se seca, obteniéndose el (1S,2R)-[2-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol en forma de sólido blanco (0,04 g, rendimiento: 24 %); p.f. = 206,1-207,8 °C; EM = 325 (M+H)⁺.
- 30 **Se obtiene el trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol de manera similar empleando un aminoéster apropiado; EM = 325,19 (M+1)⁺, 297,17 ((M+1)⁺-28).**

Ejemplo 10

- 45 **Síntesis de la N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina**

La síntesis de la N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema J.



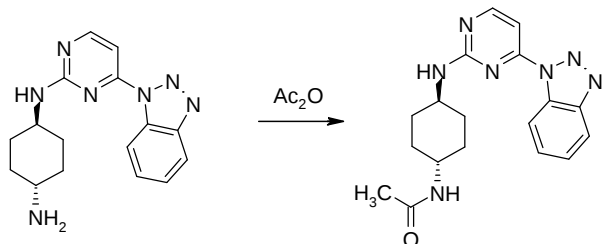
ESQUEMA J

Con un embudo de adición se añade por goteo durante un período de 10 minutos una solución caliente del 1-(2-metanosulfonyl-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (10,07 g, 37 mmoles) en 80 ml de NMP a una solución calentada a 115 °C de trans-1,4-diaminociclohexano (25,58 g, 224 mmoles) en 100 ml de NMP. Se agita la mezcla reaccionante en un baño de aceite a 115-120 °C durante 1,5 horas; después se enfría lentamente a t.amb. durante una noche. Se vierte la mezcla reaccionante sobre 300 ml de agua y se agita durante 4 horas; se extrae dos veces con EtOAc (400 ml). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan una vez con agua (el producto es soluble en agua), se secan con Na₂SO₄ y se filtran. Se evapora el disolvente a presión reducida hasta que el producto empieza a cristalizar. Se filtra el sólido, se lava con EtOAc/hexanos y se seca, obteniéndose una primera cosecha del compuesto epigrafiado. De modo similar se obtienen cosechas adicionales a partir de las aguas madres, obteniéndose un total de 6,47 g (rendimiento: 57 %) de la N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina en forma de sólido blanco mate; p.f. = 223,5-227,8 °C; EM = 310 (M+H)⁺.

Ejemplo 11

Síntesis de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-acetamida

La síntesis de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-acetamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema K.



ESQUEMA K

A una suspensión de N-(4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina (0,22 g, 0,71 mmoles) en 1,5 ml de NMP se le añade anhídrido acético (0,13 ml, 1,38 mmoles). Se agita la mezcla reaccionante durante 1 hora. Se añade acetato de etilo a la suspensión y se agita la mezcla resultante durante 10 minutos. Se filtra el precipitado, se tritura con diclorometano y se seca, obteniéndose la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-acetamida en forma de sólido blanco (0,18 g, rendimiento: 74 %); p.f. = 286,6-287,6 °C; EM = 352 (M+H)⁺.

Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar, utilizando un agente acilante apropiado:

mesilato de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-acetamida (sólido blanco); p.f. = 202,2-206,6 °C; EM = 352 (M+H)⁺;

N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanosulfonamida (sólido blanco); p.f. = 279,2-280,0 °C; EM = 388 (M+H)⁺;

metanosulfonato de (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-metanosulfonilamino-ciclohexil)-amonio (sólido blanco, 161 mg, rendimiento: 90 %); p.f. = 252,3-256,6 °C; EM = 388 (M+H)⁺;

N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-propionamida (sólido blanco); p.f. = 293,0-294,3 °C; EM = 366 (M+H)⁺;

[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-amida del ácido etanosulfónico (sólido blanco); p.f. = 282,1-287,3 °C; EM = 402 (M+H)⁺;

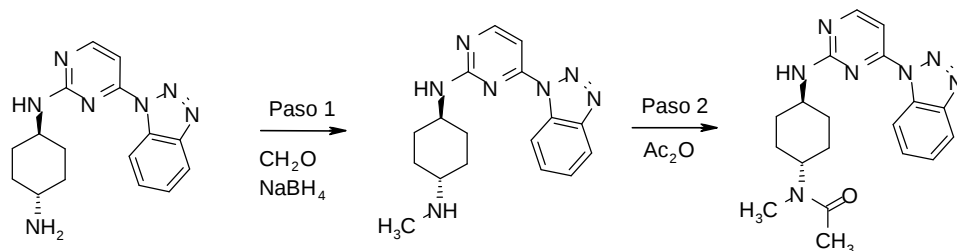
[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexil]-amida del ácido dimetilsulfámico (sólido blanco); p.f. = 242,0-244,0 °C; EM = 417 (M+H)⁺; y

2-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-piperidin-1-il]-acetamida (sólido blanco mate); p.f. = 247,9-249,3 °C; EM = 353 (M+H)⁺.

Ejemplo 12

Síntesis de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-N-metil-acetamida

La síntesis de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-N-metil-acetamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema L.



ESQUEMA L

Paso 1: Síntesis de la (4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-N'-metil-ciclohexano-trans-1,4-diamina

En atmósfera de nitrógeno se agita a t.amb. durante 4 horas una suspensión de la N-4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina (0,30 g, 0,97 mmoles), formaldehído (0,5 ml, al 37% en agua, 0,87 mmoles) y metanol (5 ml). Se añade en porciones el borhidruro sódico (0,06 g, 1,59 mmoles) y se agita la suspensión durante 1 hora. Se añade una solución de hidróxido sódico (1 M, 10 ml). Se enfría la mezcla reaccionante a 25 °C en un baño de agua y se agita durante 30 minutos. Se añade acetato de etilo (50 ml) y se agita la mezcla resultante durante 5 minutos, después se filtra. Se desecha la fase orgánica del líquido filtrado. Se extrae la fase acuosa con EtOAc; se separa la fase orgánica; se seca con Na₂SO₄ y se filtra; se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el sólido en bruto por cromatografía de columna flash utilizando MeOH al 15% en CH₂Cl₂, obteniéndose la (4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-N'-metil-ciclohexano-trans-1,4-diamina en forma de sólido (0,05 g, rendimiento: 16 %). EM = 324 (M+H)⁺.

Paso 2: Síntesis de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-N-metil-acetamida

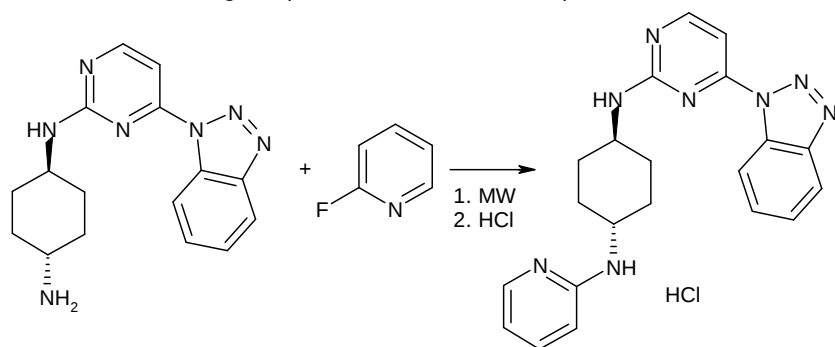
Se obtiene el compuesto epigrafiado en forma de polvo blanco mate de modo similar al descrito en el ejemplo 11 a partir de la (4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-N'-metil-ciclohexano-trans-1,4-diamina. EM = 366 (M+H)⁺.

Se obtiene la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-N-metil-metanosulfonamida (sólido blanco mate) de modo similar empleando el cloruro de metanosulfonilo; p.f. = 249,9-251,7 °C; EM = 402 (M+H)⁺.

Ejemplo 13

Síntesis del clorhidrato de la N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-N'-piridin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina

La síntesis del clorhidrato de la N-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-N'-piridin-2-il-ciclohexano-trans-1,4-diamina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema M.



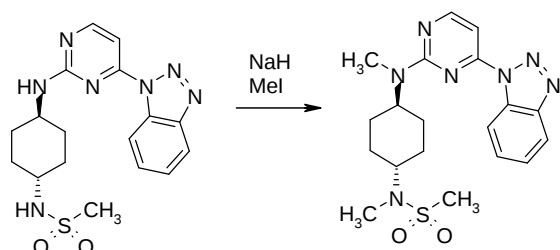
ESQUEMA M

En un reactor de microondas se calienta a 230°C durante 20 minutos una solución de N-(4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina (0,20 g, 0,65 mmoles) y 2-fluorpiridina (0,11 ml, 1,28 mmoles) en 1,5 ml de NMP. Se elimina la NMP por destilación. Se lava el sólido con una solución saturada de bicarbonato sódico, se tritura con éter y se purifica por CCF preparativa. Se transforma la base libre así obtenida en la correspondiente sal clorhidrato por adición de HCl en éter, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sólido amarillo (0,04 g, rendimiento: 16 %); p.f. = 207,0-210,0 °C. EM = 387 (M+H)⁺.

Ejemplo 14

Síntesis de N-{trans-4-[(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-metil-amino]-ciclohexil}-N-metil-metanosulfonamida

La síntesis de la N-{trans-4-[(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-metil-amino]-ciclohexil}-N-metil-metanosulfonamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema N.

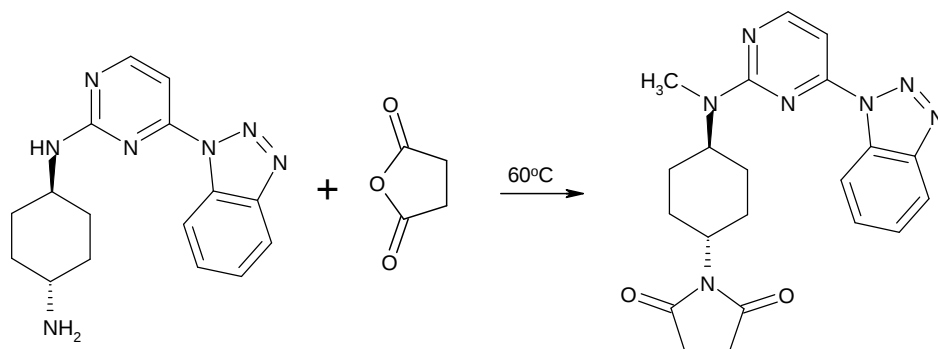
**ESQUEMA N**

A una solución de la N-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanosulfonamida (0,13 g, 0,3 mmoles) en 4 ml de NMP se le añade un exceso de NaH (dispersión en aceite mineral). La mezcla adquiere inmediatamente un color amarillo y la reacción parecer ser ligeramente exotérmica; se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante 10-15 minutos, después se le añaden un par de gotas de yodometano. El color amarillo palidece y se agita la mezcla reaccionante durante 15 minutos. Se vierte sobre 100 ml de agua y se extrae con 100 ml de EtOAc. Se separa la fase orgánica y se lava dos veces con 100 ml de agua; se seca con Na₂SO₄ y se filtra. Se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica el residuo en bruto por cromatografía flash (EtOAc/hexanos, 1:1). Por recrystalización en EtOAc/hexanos se obtiene el producto epigrafiado en forma de sólido blanco (51 mg, rendimiento: 37 %); p.f. = 203,5-204,0 °C; EM = 416 (M+H)⁺.

Ejemplo 15

Síntesis de la 1-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-pirrolidina-2,5-diona

La síntesis de la 1-[trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-pirrolidina-2,5-diona se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema O.

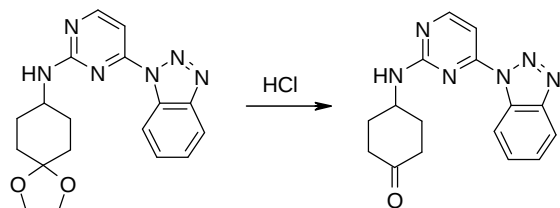
**ESQUEMA O**

Se introduce en un tubo de reacción una solución de N-(4-benzotriazol-il-pirimidin-2-il)-ciclohexano-trans-1,4-diamina (0,26 g, 0,8 mmoles) y anhídrido succínico (0,09 g, 0,9 mmoles) en 2 ml de NMP, se sella y después se calienta a 60-65 °C durante 17 horas. Se enfría la mezcla reaccionante, se concentra y se trata con 8 ml de anhídrido acético y acetato sódico (0,09 g, 1,10 mmoles). Se calienta la mezcla a reflujo y se agita durante 21 horas. Se vierte la mezcla reaccionante sobre agua enfriada con hielo y se neutraliza con hidróxido sódico 1 M. Se filtra el precipitado y se purifica por CCF preparativa, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sólido blanco (0,07 g, rendimiento: 21 %). p.f. = 205,0-210,0 °C; EM = 392 (M+H)⁺.

Ejemplo 16

Síntesis de la 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanona

La síntesis de la 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanona se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema P.

**ESQUEMA P**

A una suspensión de (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-amina (obtenida de modo similar al descrito en el ejemplo 2) (1,53 g, 4 mmoles) en 80 ml de THF se le añaden 25 ml de una solución acuosa 3 M de HCl. Se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante 20 minutos. Se calienta a reflujo durante 30 minutos. Se

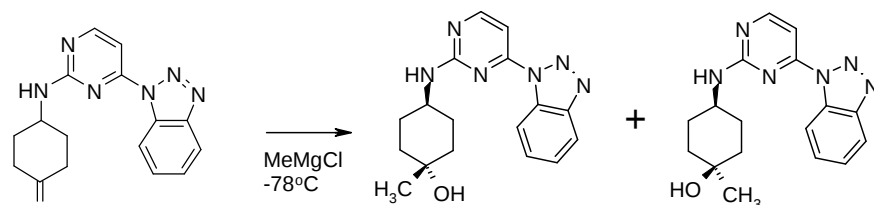
enfria y se vierte sobre una solución acuosa de NaHCO_3 . Se extrae la mezcla resultante con EtOAc, se seca con Na_2SO_4 y se filtra. Se evapora el disolvente a presión reducida hasta que el producto empieza a cristalizar en la solución; se filtra y se seca, obteniéndose el producto epigrafiado en forma de polvo blanco (942 mg, rendimiento: 70 %); p.f. = 204,9-206,5 °C; EM = 309 (M+H)⁺.

5

Ejemplo 17

Síntesis del 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-1-metil-ciclohexanol

La síntesis del 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-1-metil-ciclohexanol se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema Q.



10 ESQUEMA Q

A una solución de 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanona (764 mg, 2,5 mmoles) en 80 ml de THF, enfriada a -78 °C, se le añade por goteo el cloruro de metilmagnesio (3,5 ml, 3,0 M en THF, 10,5 mmoles). La mezcla reaccionante adquiere de inmediato un color amarillo brillante; se deja calentar a t.amb. La reacción no es completa, por lo que se enfría de nuevo a -78 °C y se le añade otra parte alícuota de MeMgCl (3 ml, 9 mmoles). Se calienta la mezcla resultante a t.amb. y se vierte sobre una solución acuosa de NH_4Cl ; se extrae con EtOAc. Se separa la fase orgánica, se seca con Na_2SO_4 y se filtra; se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el residuo en bruto por cromatografía de columna (mezcla 1-5/99-95 de MeOH/ CH_2Cl_2), obteniéndose el isómero trans menos polar (130 mg, rendimiento = 16%, p.f. = 193,0-195,4 °C; EM = 325 (M+H)⁺) y el isómero cis más polar (360 mg, rendimiento = 45%, p.f. = 202,1-205,6 °C; EM = 325 (M+H)⁺) en forma de sólidos cristalinos blancos.

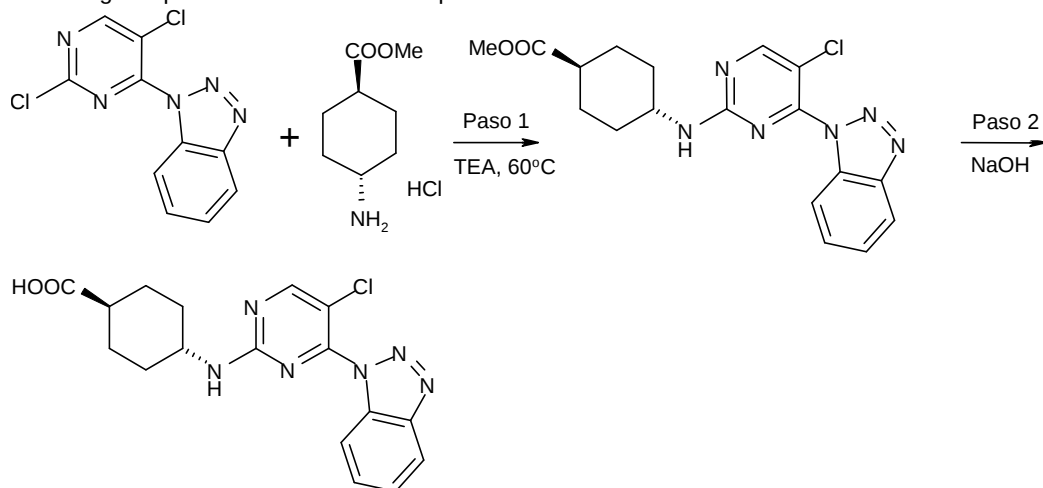
15

20

Ejemplo 18

Síntesis del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico

La síntesis del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema R.



ESQUEMA R

Paso 1: Síntesis del 4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo

En atmósfera de nitrógeno se añade en porciones el trans-4-amino-ciclohexanocarboxilato de metilo (727 mg, 3,76 mmoles) a t.amb. a una solución de 1-(2,5-dicloro-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (500 mg, 1,88 mmoles) en THF (50 ml) y después se añade la TEA (0,79 ml, 5,64 mmoles). Se agita la suspensión blanca resultante a t.amb. durante una noche y después a 60 °C durante 2,5 días. Se reparte la mezcla entre agua (100 ml) y EtOAc (100 ml). Se separa la fase orgánica, se lava dos veces con agua (100 ml) y una vez con salmuera (100 ml), después se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida, obteniéndose un sólido blanco mate. Se purifica este material en bruto por cromatografía flash (tolueno/EtOAc, 90/10), obteniéndose 538 mg (rendimiento: 74 %) del 4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo en forma de sólido blanco mate. EM = 387,10 (M+1)⁺, 359,13 ((M+1)⁺-28).

40

Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar empleando una pirimidina apropiada:

trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-fluor-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo; EM = 371,12 (M+1)⁺, 343,14 ((M+1)⁺-28);

trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-metil-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo; EM = 367,20 (M+1)⁺, 339,23 ((M+1)⁺-28); y

5 trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo; EM = 353,21 (M+1)⁺, 325,19 ((M+1)⁺-28).

Paso 2: Síntesis del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico

10 Se añade a t.amb. una solución acuosa de NaOH (2 M, 10 ml) a una solución incolora del 4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxilato de metilo (482 mg, 1,25 mmoles) en THF (10 ml). Se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante una noche; se diluye con agua (15 ml) y se acidifica hasta pH 3 por adición de HCl (2 M). Se recoge por filtración el precipitado blanco formado, se lava con agua y se seca con aire, obteniéndose 435 mg (rendimiento: 85 %) del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico en forma de sólido blanco. EM = 373,12 (M+1)⁺, 345,15 ((M+1)⁺-28).

15 Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar empleando una pirimidina apropiada:

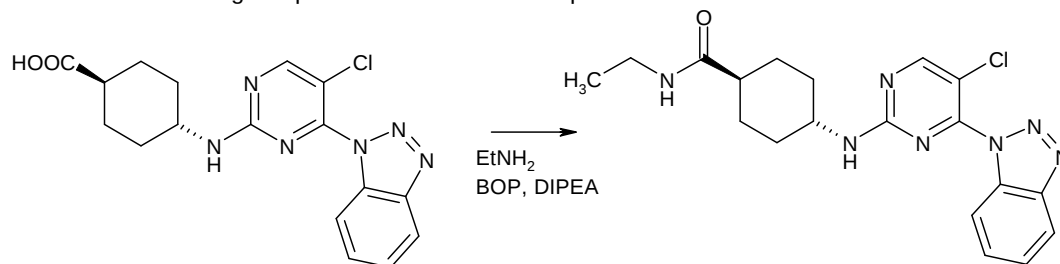
ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 339,21 (M+1)⁺, 311,21 ((M+1)⁺-28); y

20 ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-fluor-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 357,12 (M+1)⁺, 329,15 ((M+1)⁺-28).

Ejemplo 19

Síntesis de la etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico

25 La síntesis de la etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema S.



ESQUEMA S

30 Se agita a t.amb. durante 2 días una mezcla del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico (70 mg, 0,17 mmoles), etil-amina (21 µl, 0,26 mmoles), BOP (114 mg, 0,26 mmoles) y DIPEA (59 µl, 0,34 mmoles) en THF (60 ml). Se separa por filtración el sólido blanco formado, se diluye el líquido filtrado con agua (25 ml) y se extrae 3 veces con una mezcla isopropanol/cloroformo (1/1, 20 ml). Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran a presión reducida, obteniéndose un residuo blanco mate, que se purifica por cromatografía flash (DCM/MeOH, 98/2), obteniéndose 68 mg (rendimiento cuantitativo) de la etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-cloro-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico en forma de sólido blanco. EM = 400,17 (M+1)⁺, 372,17 ((M+1)⁺-28). RMN-H¹ (250 MHz, CD₃OD) δ ppm = 8,55 (1 H, s), 8,09 - 8,21 (2 H, m), 7,69 (1 H, dd, J = 7,50 Hz), 7,55 (1 H, dd, J = 7,50 Hz), 3,71 - 3,88 (1 H, m), 3,18 (2 H, q, J = 7,29 Hz), 2,10 - 2,25 (3 H, m), 1,82 - 1,95 (2 H, m), 1,50 - 1,71 (2 H, m), 1,26 - 1,48 (2 H, m), 1,10 (3 H, t, J = 7,29 Hz).

40 Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar empleando las aminas y derivados de pirimidina adecuados: trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-(4-metil-piperazin-1-il)-metanona; RMN-H¹ (400 MHz, MeOD) δ ppm = 8,54 - 8,99 (1 H, bd), 8,44 (1 H, d, J = 5,38 Hz), 8,11 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 7,70 (1 H, m), 7,55 (1 H, m), 7,44 (1 H, d, J = 5,38 Hz), 4,15 - 4,29 (1 H, m), 3,70 - 4,10 (2 H, m), 3,14 - 3,39 (6 H, m), 2,90 (3H, s), 2,83 - 2,94 (1 H, m), 2,00 - 2,13 (2 H, m), 1,80 - 1,99 (4 H, m), 1,65 - 1,77 (2 H, m);

45 ciclopropilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 378,22 (M+1)⁺, 350,22 ((M+1)⁺-28);

trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-pirrolidin-1-il-metanona; EM = 391,21 (M+1)⁺;

50 (2-hidroxi-etil)-amida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 382,18 (M+1)⁺;

cis-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-(4-metil-piperazin-1-il)-metanona; EM = 421,23 (M+1)⁺;

(tetrahidro-piran-4-il)-amida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 422,24 (M+1)⁺;

55 (2-hidroxi-etil)-metil-amida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 396,12 (M+1)⁺;

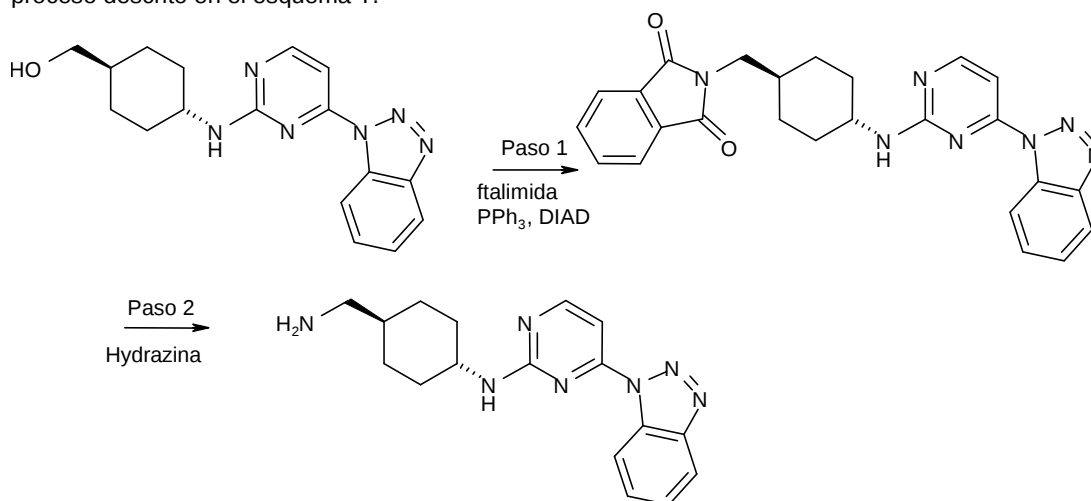
trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-morfolin-4-il-metanona; EM = 408,26 (M+1)⁺;

(2-amino-2-metil-propil)-amida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 409,27 (M+1)⁺;
 etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 366,19 (M+1)⁺,
 338,23 ((M+1)⁺-28);
 5 trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-5-fluor-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-morfolin-4-il-metanona; EM = 426,15 (M+1)⁺,
 398,14 ((M+1)⁺-28);
 trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-5-metil-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-morfolin-4-il-metanona; EM = 422,18 (M+1)⁺,
 394,15 ((M+1)⁺-28);
 etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-fluor-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 384,15
 10 (M+1)⁺, 356,17 ((M+1)⁺-28); y
 etilamida del ácido trans-4-(4-benzotriazol-1-il-5-metil-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarboxílico; EM = 380,18
 (M+1)⁺, 352,21 ((M+1)⁺-28).

Ejemplo 20

Síntesis de trans-(4-aminometil-ciclohexil)-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-amina

La síntesis de la trans-(4-aminometil-ciclohexil)-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-amina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema T.



ESQUEMA T

Paso 1: Síntesis de trans-2-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-isoindol-1,3-diona

Se añade la trietilfosfina (972 mg, 1,2 eq.) a una solución de trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol (1g, 1 equivalente; obtenido de modo similar al descrito en el ejemplo 4) en tolueno (100 ml), después se añade por goteo el DIAD (0,73 ml, 1,2 eq.). Se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante 10 minutos y después se le añade la ftalimida (545 mg, 1,2 eq.). Se agita la mezcla a t.amb. durante una noche, se le añade agua y se extrae la mezcla resultante 3 veces con EtOAc. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se evapora el disolvente a presión reducida. Se tritura el residuo en bruto con MeOH, obteniéndose 976 mg (rendimiento: 70 %) de la trans-2-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-isoindol-1,3-diona; EM = 454,40 (M+1)⁺.

Se obtiene la trans-4-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-morfolina-3,5-diona de manera similar empleando una imida apropiada; EM = 422,35 (M+1)⁺.

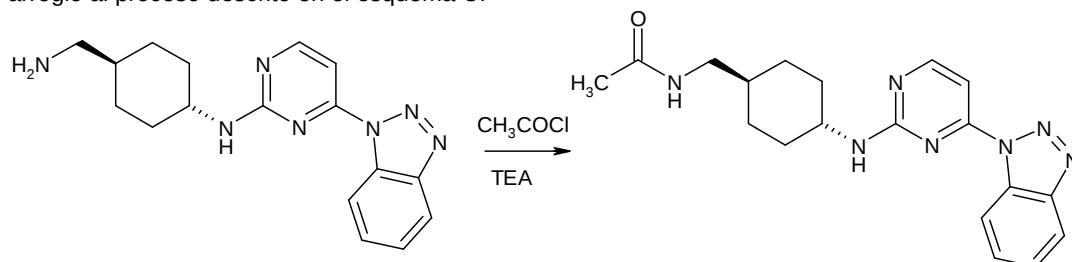
Paso 2: Síntesis de la trans-(4-aminometil-ciclohexil)-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-amina

Se añade la hidrazina monohidratada (0,28 ml, 2,7 eq.) a una solución de trans-2-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-isoindol-1,3-diona (976 mg, 1 equivalente) en EtOH (60 ml). Se agita la mezcla reaccionante a 70 °C durante una noche, entonces se añade una segunda parte alícuota de hidrazina monohidratada (0,22 ml, 2,0 eq.) y se agita la mezcla a reflujo durante 7 horas. Se evapora el disolvente a presión reducida, se disuelve el residuo en una mezcla de isopropanol y cloroformo y se acidifica hasta pH 3 por adición de HCl (1 M). Se lava la fase orgánica 3 veces con agua. Se basicifica la fase acuosa a pH 8-9 por adición de NaOH (1 M) y se extrae 5 veces con una mezcla de isopropanol y cloroformo. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se evapora el disolvente a presión reducida. Se repite 3 veces este procedimiento de extracción ácido/base con el fin de eliminar la ftalazinona. Se obtiene la trans-(4-aminometil-ciclohexil)-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-amina en una pureza del 71% (450 mg, rendimiento: 65 %). RMN-H¹ (400 MHz, CD₃OD) δ ppm = 8,53 - 8,85 (1 H, bd), 8,40 (1 H, d, J = 5,50 Hz), 8,09 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 7,67 (1 H, m), 7,53 (1 H, m), 7,39 (1 H, d, J = 5,50 Hz), 3,76 - 3,89 (1 H, m), 2,60 (2 H, d, J = 6,60 Hz), 2,11 - 2,28 (2 H, m), 1,88 - 2,02 (2 H, m), 1,08 - 1,54 (5 H, m).

Ejemplo 21

Síntesis de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-acetamida

La síntesis de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-acetamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema U.



5

ESQUEMA U

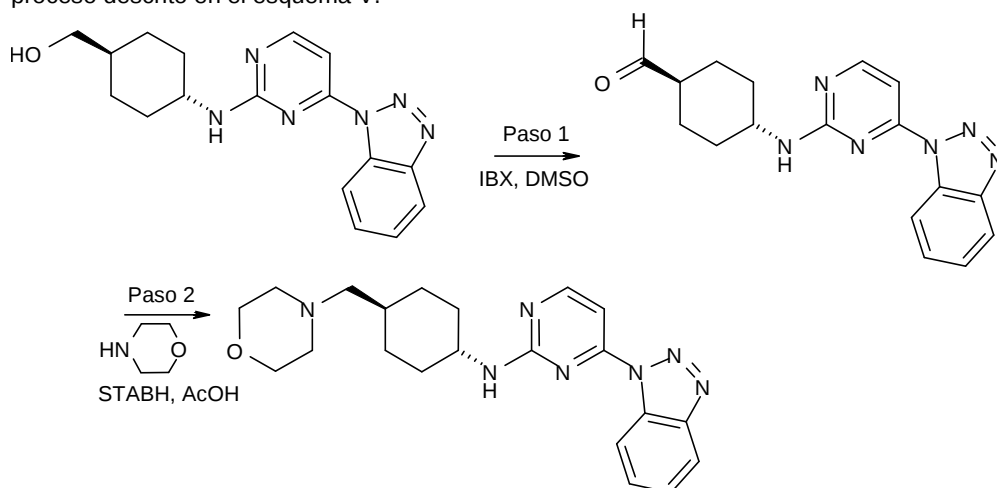
En atmósfera de nitrógeno se añade la TEA (52 µl, 0,37 mmoles) a una solución de trans-(4-aminometil-ciclohexil)-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-amina (60 mg, 0,185 mmoles) en DCM (3 ml). Se enfría la mezcla a -78 °C y se le añade el cloruro de acetilo (13,2 µl, 0,185 mmoles). Se agita la mezcla reaccionante a t.amb. durante una noche; se vierte sobre agua y se extrae 3 veces con una mezcla de isopropanol y cloroformo. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el residuo en bruto por CCF preparativa, obteniéndose 10 mg de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-acetamida. RMN-H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,55 (1 H, d, J = 8,19 Hz), 8,41 (1 H, d, J = 5,14 Hz), 8,12 (1 H, d, J = 8,19 Hz), 7,57 - 7,67 (1 H, m), 7,42 - 7,51 (2 H, m), 7,16 - 7,24 (0,3 H, m), 5,55 - 5,64 (0,7 H, m), 5,18 - 5,43 (1 H, m), 3,80 - 3,93 (1 H, m), 3,11 - 3,25 (2 H, m), 2,27 (1 H, s), 2,19 - 2,35 (2 H, m), 2,00 (2 H, s), 1,85 - 1,95 (2 H, m), 1,50 - 1,63 (1 H, m), 1,11 - 1,37 (4 H, m).

Se obtiene la trans-N-N'-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexilmetil]-dimetilsulfanoil-urea de manera similar empleando como agente acilante el cloruro de dimetilsulfamoilo. RMN-H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,52 (1 H, d, J = 8,19 Hz), 8,34 - 8,42 (1 H, bd), 8,11 (1 H, d, J = 8,19 Hz), 7,60 (1 H, m), 7,41 - 7,51 (2 H, m), 3,75 - 3,89 (1 H, m), 2,94 (2 H, d, J = 6,36 Hz), 2,79 (6 H, s), 2,20 - 2,33 (2 H, m), 1,86 - 2,00 (2 H, m), 1,48 - 1,62 (1 H, m), 1,09 - 1,39 (4 H, m).

Ejemplo 22

Síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-morfolin-4-ilmetil-ciclohexil)-amina

La síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-morfolin-4-ilmetil-ciclohexil)-amina se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema V.

**ESQUEMA V**

Paso 1: Síntesis del 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexanocarbaldehído

Se añade el ácido yodóxibenzoico (830 mg, 2,96 mmoles) a una solución de trans-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-metanol (640 mg, 1,97 mmoles) en DMSO (10 ml) y se agita la mezcla resultante a t.amb. durante 23 horas. Se añade otra parte alícuota de ácido o-yodóxibenzoico (830 mg, 2,96 mmoles). Pasadas unas pocas horas, se interrumpe la reacción. Se añade agua y se agita la mezcla resultante durante 20 minutos, se filtra el sólido formado y se extrae el líquido filtrado 3 veces con EtOAc. Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan una vez con agua, se secan con Na₂SO₄ y se filtran; se evapora el disolvente a presión reducida. Se lava el sólido blanco formado varias veces con EtOAc y se reúne con el sólido obtenido previamente, obteniéndose 789 mg de residuo en bruto. Se purifica este material en bruto por cromatografía flash (heptano/EtOAc, con un gradiente de EtOAc del 20%

al 50%), obteniéndose 452 mg (rendimiento: 70 %) de 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexanocarbaldehído.

Paso 2: Síntesis de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-morfolin-4-il-metil-ciclohexil)-amina

- 5 Se agita a t.amb. durante 2 horas una mezcla de 4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexanocarbaldehído (39 mg), morfolina (14 μ l) y ácido acético (2 gotas) en DCE (2 ml); después se añade el triacetoxiborhidruro sódico. Se agita la mezcla resultante a t.amb. durante 3 horas. Se añade agua; se separa la fase orgánica y se lava 3 veces con agua. Se extrae de nuevo la fase acuosa con DCM. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan con Na_2SO_4 y se filtran; se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica el residuo por CCF preparativa, obteniéndose
- 10 13,2 mg de la (4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-(4-morfolin-4-il-metil-ciclohexil)-amina. RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8,56 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 8,36 - 8,46 (1 H, bd), 8,12 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 7,55 - 7,69 (1 H, m), 7,40 - 7,52 (2 H, m), 5,22 - 5,64 (1 H, m), 3,49 - 3,96 (5 H, m), 2,12 - 2,56 (6 H, m), 1,46 - 2,04 (5 H, m), 1,03 - 1,46 (4 H, m).

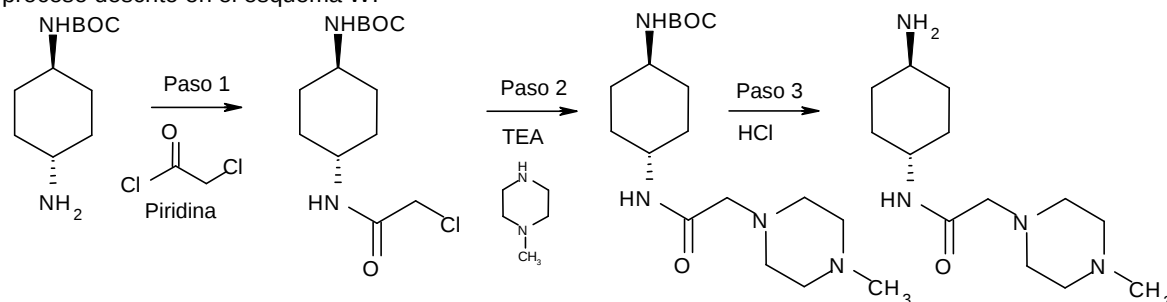
Los compuestos siguientes se obtienen de modo similar empleando las aminas apropiadas:

- 15 trans-4-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il-amino)-ciclohexilmetil]-piperazina-1-carboxilato de tert-butilo. RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8,56 (1 H, d, J = 8,43 Hz), 8,41 (1 H, bd), 8,12 (1 H, d, J = 8,43 Hz), 7,61 (1 H, m), 7,43 - 7,51 (2 H, m), 5,10 - 5,87 (1 H, m), 3,81 - 3,94 (1 H, m), 3,39 - 3,47 (4 H, m), 2,33 - 2,42 (3 H, m), 2,19 - 2,32 (4 H, m), 1,87 - 2,02 (2 H, m), 1,50 - 1,83 (2 H, m), 1,45 (9 H, s), 1,05 - 1,41 (4 H, m); y
- 20 trans-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-il)-{4-[(2-metoxi-etil-amino)-metil]-ciclohexil}-amina. RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8,56 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 8,38 - 8,45 (1 H, m), 8,12 (1 H, d, J = 8,31 Hz), 7,61 (1 H, m), 7,42 - 7,50 (2 H, m), 5,17 - 5,64 (1 H, bd), 3,76 - 3,94 (1 H, m), 3,47 - 3,54 (2 H, m), 3,36 (3 H, s), 2,75 - 2,82 (2 H, m), 2,50 - 2,58 (2 H, m), 2,18 - 2,35 (1 H, m), 1,89 - 1,99 (1 H, m), 1,60 - 1,83 (4 H, m), 1,10 - 1,41 (4 H, m).

Ejemplo 23

- 25 Síntesis de la trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetamida (intermedio)

La síntesis de la trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema W.



ESQUEMA W

- 30 Paso 1: Síntesis del trans-[4-(2-cloro-acetilamino)-ciclohexil]-carbamato de tert-butilo
- A una solución enfriada con hielo de la trans-4-metil-ciclohexilamina (520 mg, 1,5 mmoles) en DCM (15 ml) se le añade piridina (0,36 ml, 4,5 mmoles) y después se añade por goteo el cloruro de cloroacetilo (1 equivalente). Se deja calentar la mezcla a t.amb. y se agita durante 3 días. Se añade otra parte alícuota de piridina (1 equivalente) y de cloruro de cloroacetilo (1 equivalente) y se agita la mezcla resultante durante una noche. Se diluye la mezcla reaccionante con EtOAc, se lava con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 , se extrae con EtOAc y se lava de nuevo con agua. Se reúnen las fases orgánicas, se secan con Na_2SO_4 , se filtran y se concentran a presión reducida, obteniéndose 478 mg del trans-[4-(2-cloro-acetilamino)-ciclohexil]-carbamato de tert-butilo sin más purificación.

- 40 Paso 2: Síntesis del trans-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetilamino]-ciclohexil}-carbamato de tert-butilo
- Se añade a t.amb. una solución de trans-[4-(2-cloro-acetilamino)-ciclohexil]-carbamato de tert-butilo (330 mg, 1,14 mmoles) en DCM (12 ml) a una solución de metilpiperazina (0,1 ml, 0,95 mmoles) en DCM (1 ml). Se mantiene la mezcla resultante en agitación durante una noche, después se diluye con DCM y se lava con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 . Se extrae la fase acuosa con DCM y después con EtOAc. Se reúnen las fases orgánicas, se secan con Na_2SO_4 , se filtran y se concentran a presión reducida, obteniéndose 199 mg del trans-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetilamino]-ciclohexil}-carbamato de tert-butilo sin más purificación.

Paso 3: Síntesis de la trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetamida

- 50 Se añade a t.amb. una solución acuosa de HCl (2 M, 15 ml) a una solución de trans-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetilamino]-ciclohexil}-carbamato de tert-butilo (199 mg, 0,56 mmoles) en MeOH (15 ml) y se agita la mezcla resultante durante una noche. Se concentra la mezcla reaccionante a presión reducida, obteniéndose un residuo sólido. Se añade Et_2O a este material y se trata con ultrasonidos la suspensión resultante. Se separa la fase etérea por decantación, quedando un sólido pulverulento marrón, que se purifica por CCF preparativa. Se disuelve el aceite resultante en una cantidad mínima de MeOH y se le añade Et_2O . Precipita un sólido; se separa la fase líquida por decantación y se seca el sólido, obteniéndose 75 mg de la trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetamida en forma de polvo fino.

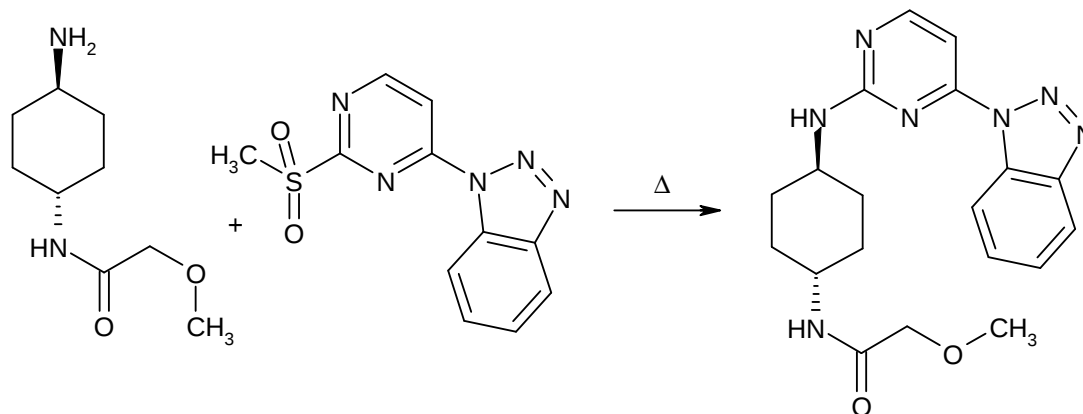
De modo similar, empleando los materiales de partida apropiados, se obtienen los siguientes compuestos:

- trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-morfolin-4-il-acetamida;
- trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-metoxi-acetamida; y
- trans-N-(4-amino-ciclohexil)-2-hidroxi-acetamida.

Ejemplo 24

Síntesis de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-metoxi-acetamida

La síntesis de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-metoxi-acetamida se lleva a cabo con arreglo al proceso descrito en el esquema X.



ESQUEMA X

Se introducen en un tubo sellable de 10 ml, cargado con 1-(2-metanosulfonil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol (99,1 mg, 0,36 mmoles), la NMP (1 ml) y la diisopropiletilamina (0,19 ml, 1,09 mmoles). En un segundo tubo sellable de 5 ml, cargado con N-(4-amino-ciclohexil)-2-metoxi-acetamida (100 mg, 0,36 mmoles), se introduce la NMP (1 ml). Se calientan ambos tubos a 120°C y, después de la disolución completa de los sólidos, se trasvasa mediante una cánula la solución del 1-(2-metanosulfonil-pirimidin-4-il)-1H-benzotriazol al tubo que contiene la solución de la N-(4-amino-ciclohexil)-2-metoxi-acetamida. Se agita la mezcla resultante a 120°C durante 1,5 horas, se enfría a t.amb. y se vierte sobre agua (15 ml). Se agita la mezcla resultante durante una noche, se diluye con DCM y se lava con agua. Se separa la fase acuosa y se extrae con DCM. Se reúnen las fases orgánicas, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran a presión reducida, obteniéndose un aceite, que se disuelve en una pequeña cantidad de EtOAc y se añade hexano para precipitar los sólidos. Se deja sedimentar la mezcla resultante durante 1 h, después de lo cual se decanta cuidadosamente el líquido sobrenadante y se separa. Se seca el sólido restante a presión reducida, obteniéndose 86 mg (rendimiento: 63 %) de la trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-metoxi-acetamida. EM = 381 [M+H]⁺; p.f. = 233,5-235,4 °C.

De manera similar, empleando los materiales de partida adecuados, se obtienen los compuestos siguientes:

- trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-hidroxi-acetamida, EM = 368 [M+H]⁺;
- trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-morfolin-4-il-acetamida, EM = 437 [M+H]⁺; y
- trans-N-[4-(4-benzotriazol-1-il-pirimidin-2-ilamino)-ciclohexil]-2-(4-metil-piperazin-1-il)-acetamida, EM = 450 [M+H]⁺.

Formulaciones

Los preparados farmacéuticos para la administración por diversas vías se formulan del modo indicado en las tablas siguientes. El término "ingrediente activo" o "principio activo" empleado en las tablas significa uno o varios compuestos de la fórmula I.

Composición para la administración oral

Ingrediente	% p/p
principio activo	20,0 %
lactosa	79,5 %
estearato magnésico	0,5 %

Se mezclan los ingredientes y se envasan en cápsulas que contienen unos 100 mg cada una; una cápsula equivale aproximadamente a una dosis diaria total.

Composición para la administración oral

Ingrediente	% p/p
principio activo	20,0 %
estearato magnésico	0,5 %
croscarmelosa sódica	2,0 %
lactosa	76,5 %
PVP (polivinilpirrolidona)	1,0 %

Se combinan los ingredientes y se granulan utilizando un disolvente, por ejemplo metanol. A continuación se seca la formulación y se prensa para obtener tabletas (que contienen unos 20 mg de principio activo) en una máquina idónea.

Composición para la administración oral

Ingrediente	Cantidad
principio activo	1,0 g
ácido fumárico	0,5 g
cloruro sódico	2,0 g
metil-paraben	0,15 g
propil-paraben	0,05 g
azúcar granulado	25,5 g
sorbita (solución al 70 %)	12,85 g
Veegum K (Vanderbilt Co.)	1,0 g
saborizante	0,035 ml
colorante	0,5 mg
agua destilada, hasta	100 ml

- 5 Se mezclan los ingredientes para formar una suspensión destinada a la administración oral.

Formulación parenteral

Ingrediente	% p/p
principio activo	0,25 g
cloruro sódico, cantidad suf.	para isotónico
agua para inyección	100 ml

- 10 Se disuelve el principio activo en una porción del agua para inyección. A continuación se añade una cantidad suficiente de cloruro sódico con agitación para convertir la solución en isotónica. Se completa el peso de la solución añadiendo el resto del agua para inyección, se filtra a través de un filtro de membrana de 0,2 micras y se envasa en condiciones estériles.

Formulación de supositorio

Ingrediente	% p/p
principio activo	1,0 %
polietilenglicol 1000	74,5 %
polietilenglicol 4000	24,5 %

- 15 Se funden los ingredientes juntos y se mezclan sobre un baño de vapor, se vierte la mezcla en moldes, con capacidad para un peso total de 2,5 g.

Formulación tópica

Ingrediente	gramos
principio activo	0,2-2
Span 60	2
Tween 60	2
aceite mineral	5
vaselina	10
metil-paraben	0,15
propil-paraben	0,05
BHA (hidroxianisol butilado)	0,01
agua, hasta	100

- 20 Se combinan todos los ingredientes, excepto el agua, y se calientan con agitación a unos 60°C. Se añade una cantidad de agua a 60°C con agitación vigorosa para emulsionar los ingredientes y después se añade una cantidad suficiente de agua para completar 100 g.

Formulaciones de nebulizador nasal

- 25 Se preparan diversas suspensiones acuosas que contengan aproximadamente del 0,025 al 0,5 por ciento de principio activo como formulaciones de nebulizador nasal. Las formulaciones contienen opcionalmente ingredientes inactivos, por ejemplo celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa sódica, dextrosa y similares. Puede añadirse ácido clorhídrico para ajustar el pH. Las formulaciones de nebulización nasal pueden administrarse mediante una bomba calibrada de nebulización nasal, que entrega de 50 a 100 microlitros de formulación por actuación. Un programa típico de dosificación consiste en 2-4 nebulizaciones cada 4-12 horas.

Ejemplo 28

- 30 Ensayos de quinasas

A: Medición de la IC₅₀

Para determinar la inhibición de la actividad de las Cdk4, Cdk2 y Cdk1 se realizan ensayos empleando placas del tipo FlashPlate™ (NEN™-Life Science Products). Los ensayos en placas FlashPlate se realizan empleando complejos de ciclina B recombinante humana-CDK1, de ciclina E humana-CDK2 o de ciclina D1 humana-CDK4. Los

clones de cDNA de GST-ciclina E (GST-cycE), CDK2, GST-ciclina B (GST-cycB), CDK1, GST-CDK4 y ciclina D1 (cycD1) en vectores de baculovirus los ha facilitado el Dr. W. Harper del Baylor College of Medicine, Houston, TX. Las proteínas se co-expresan en células de insectos High Five™ y el complejo se purifica en una resina de glutationa-Sepharose® (Pharmacia, Piscataway, NJ) del modo descrito anteriormente (J.W. Harper y col., Cell 75, 805-16, 1993). Como sustrato para los ensayos de cycD1-CDK4, cycB-CDK1 y cycE-CDK2 se emplea una forma truncada, marcada con 6X-histidina, de una proteína (aminoácidos 386-928) de retinoblastoma (Rb) (el plásmido de expresión lo ha facilitado la Dra. Veronica Sullivan, Department of Molecular Virology, Roche Research Centre, Welwyn Garden City, Reino Unido). La proteína del Rb es un sustrato natural para la fosforilación con CDK4, CDK2 y CDK1 (véase Herwig y Strauss, Eur. J. Biochem. 246, 581-601, 1997 y las referencias que se citan en él).

La expresión de la proteína de 62 Kd se realiza bajo el control de un promotor inducible IPTG en una cepa M15 de *E. coli*. Se lisan las células por tratamiento con ultrasonidos y se realiza la purificación fijando los lisados a pH = 8,0 sobre una columna de agarosa con Ni quelatado, tratada previamente con imidazol 1 mM. Después se lava la resina varias veces con tampones de pH decreciente gradualmente hasta pH = 6,0 y se eluye con imidazol 500 mM. Se dializa la proteína eluida frente a HEPES 20 mM, de pH = 7,5, glicerina del 30 %, NaCl 200 mM y DTT 1 mM. Se cuantifican las existencias de proteína de fusión de Rb purificada en cuanto a concentración de proteína, se dividen en partes alícuotas y se almacenan a -70°C.

Para los tres ensayos de quinasas que aquí se describen se emplean placas del tipo FlashPlates de 96 hoyos, recubiertas con proteína Rb a razón de 10 µg/ml, empleando 100 µl por hoyo. Se incuban las placas a 4°C durante una noche o a t.amb. durante 3 horas en una máquina agitadora. Para controlar la fosforilación no específica, se recubre una fila de hoyos con 100 µl/hoyo de tampón de recubrimiento (20 mM HEPES, 0,2 M NaCl). Después se lavan las placas dos veces con tampón de lavado (0,01% Tween® 20 en solución salina tamponada con fosfato). Los compuestos a ensayar ("compuestos de ensayo") se añaden a los hoyos en una concentración 5x la concentración final. Se inician las reacciones con la adición inmediata de una mezcla de reacción de 40 µl (25 mM HEPES, 20 mM MgCl₂, 0,002% Tween 20, 2 mM DTT, 1 µM ATP, 4 nM ATP-P³³) y una cantidad suficiente de enzima, obteniéndose cuentas que son por lo menos 10 veces mayores que la línea de base. Se incuban las placas a t.amb. en una máquina agitadora durante 30 minutos. Se lavan las placas cuatro veces con el tampón de lavado, se sellan y se cuenta en un aparato contador de centelleo del tipo TopCount (Packard Instrument Co., Downers Grove, IL). La inhibición porcentual de la fosforilación del Rb, que es un índice de la inhibición de la actividad de la CDK, se determina con arreglo a la fórmula siguiente:

$$\text{compuesto de ensayo - no específico} = 100 \times \left[1 - \frac{\text{cuentas promedio por minuto de los duplicados de ensayo, "no específico"}}{\text{cuentas promedio por minuto cuando no se añade compuesto. El valor de la IC}_{50} \text{ es la concentración de compuesto de ensayo que reduce en un 50\% la incorporación inducida por la proteína-quinasa del marcador radiactivo en las condiciones de ensayo descritas.}} \right]$$

en la que "compuesto de ensayo" indica las cuentas promedio por minuto de los duplicados de ensayo, "no específico" indica las cuentas promedio por minuto cuando no se añade la ciclina D/Cdk4, etc., y "total" indica las cuentas promedio por minuto cuando no se añade compuesto. El valor de la IC₅₀ es la concentración de compuesto de ensayo que reduce en un 50% la incorporación inducida por la proteína-quinasa del marcador radiactivo en las condiciones de ensayo descritas.

B. Medición de la K_i

Como alternativa puede medirse la actividad inhibidora empleando la K_i. Utilizando constructos de proteína descritos antes en el ejemplo 28(A) se realizan ensayos HTRF con la CDK1, CDK2 y CDK4. Estos se efectúan en placas de 96 hoyos y se leen en formato de placa de 384 hoyos. Los ensayos se realizan a 3x sus respectivas K_m del ATP.

En el ensayo de la CDK4 se diluyen los compuestos de ensayo hasta 3x de sus concentraciones finales en 25 mM Hepes, pH 7,0, 6,25 mM MgCl₂, 1,5 mM DTT, 135 µM ATP. La concentración de DMSO no es superior al 4,76%. Se añaden veinte microlitros a los hoyos de una placa de 96 hoyos. Se inicia la reacción de la quinasa por adición a cada hoyo de 40 µl de una solución que contiene 0,185 µM Rb y 2,25 µg/ml CDK4 en 25 mM HEPES, pH 7,0, 6,25 mM MgCl₂, 0,003% Tween-20, 0,3 mg/ml BSA, 1,5 mM DTT. Se incluyen los hoyos en blanco, que no contienen CDK4. Se incuban las placas a 37°C durante 30 minutos con agitación. Se termina la reacción de la quinasa por adición a cada hoyo de 15 µl de 1,6 µM del anticuerpo anti-fosfo-Rb (Ser 780) (Cell Signaling Inc.) en 25 mM HEPES, pH 7,0, 24 mM EDTA, 0,2 mg/ml BSA. Después de 30 minutos a 37°C se añaden a cada hoyo 15 µl de la IgG anticonejo 3 nM marcada con Lance-Eu-W1024 y anti-His6 conjugado con alofocianina 60 nM (PerkinElmer Life Sciences) en 25 mM Hepes, pH 7,0, 0,5 mg/ml BSA. Después de una hora de incubación a 37°C se transfieren por duplicado 35 µl de cada hoyo a placas negras de 384 hoyos. Se leen las placas empleando aparatos lectores del tipo ViewLux o Victor V (PerkinElmer Life Sciences) aplicando una longitud de onda de excitación de 340 nm y longitudes de onda de emisión dual de 615 nm y 665 nm. Los valores de la IC₅₀ (la concentración de los compuestos de ensayo que reducen el valor de lectura de fluorescencia del control de ensayo en un 50 %) se calculan en primer lugar a partir de las lecturas netas a 665 nm, normalizadas con las lecturas de europio a 615 nm. Para los inhibidores competidores de ATP, los valores de K_i se calculan con arreglo a la ecuación siguiente:

$$K_i = IC_{50} / (1 + S/K_m)$$

en la que S indica la concentración de sustrato y Km es la constante de Michaelis-Menten.

Los ensayos de la CDK1 y CDK2 se realizan de forma similar, salvo pequeñas diferencias en las concentraciones de reactivo y de proteína.

Los tampones del compuesto y de la enzima de ambos ensayos contienen MgCl₂ 10 mM. Para la CDK1 y la CDK2, las concentraciones respectivas del reactivo ATP son de 162 μM y 90 μM. Se emplean la CDK1 en una concentración de reactivo de 0,15 ng/μl y la CDK2 en una concentración de reactivo de 0,06 ng/μl. Las concentraciones de los reactivos de detección se ajustan entre 3-12 nM de Eu-Ab y 60-90 nM de APC-antiHis6, obteniéndose señal de base en relación por lo menos de 10 a 1.

Ejemplo 29

Ensayos de base celular (ensayo de proliferación con colorante tetrazolio) ("ensayo MTT")

Se evalúa la proliferación con el ensayo del colorante tetrazolio con arreglo al procedimiento de Denizot y Lang (F. Denizot y R. Lang, J. Immunol. Meth. 89, 271-77, 1986). La línea celular empleada es la HCT116, una línea celular de carcinoma colorrectal, facilitada por la American Type Cell Culture Collection (ATCC; Rockville, MD). Se cultivan las células en un medio McCoy's 5A suplementado con FCS del 10% y L-glutamina.

Se extienden las células en placas en una densidad de siembra apropiada para conseguir un crecimiento logarítmico a lo largo del curso del ensayo en placa de cultivo de tejido de 96 hoyos. Se incuban las placas a 37°C durante una noche en una incubadora humidificada y con un 5 % de CO₂. Al día siguiente se diluyen en serie los compuestos de ensayo hasta una concentración cuatro veces superior a la concentración final en un medio apropiado que contiene DMSO del 1,2 %. Un cuarto del volumen final de cada dilución se añade por duplicado a las placas que contienen células. El mismo volumen de DMSO del 1,2 % en medio se añade a la fila de "hoyos de control", de modo que la concentración final de DMSO de cada hoyo sea del 0,3%. Los hoyos que no contienen células se emplean como "blancos". Los hoyos a los que no se añade inhibidor se emplean como "controles sin inhibidor". Se introducen de nuevo las placas en la incubadora y se analizan en momentos predeterminados (determinados por sus curvas de crecimiento) del modo que se indica a continuación.

Se añade a cada hoyo el bromuro de 3-(4,5-dimetil- tiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolio (azul de tiazolilo; MTT; Sigma) para conseguir una concentración final de 1 mg/ml. Se introducen de nuevo las placas en la incubadora a 37°C durante 2,5-3 horas. Se separa el medio que contiene el MTT y se solubiliza el metabolito de formazano resultante en etanol del 100 % agitando a t.amb. durante 15 minutos. Se registran las lecturas de la absorbancia en un lector de placas de microvaloración (se utilizan indistintamente los lectores de placas de Dynatech y de Molecular Devices) a una longitud de onda de 570 nm con la longitud de onda de 650 nm como referencia. Se calcula la inhibición porcentual (% de INH) restando la absorbancia de los hoyos en blanco de la absorbancia de todos los hoyos, después restando la relación de la absorción media de cada duplicado de ensayo (S_{AVE}) por el promedio de los controles (C_{AVE}) de 1,00. El número final se multiplica por 100 (% INH = (1,00 - S_{AVE}/C_{AVE}) x 100). Se determina la concentración, a la que se obtiene una inhibición del 90% de la proliferación celular (la IC₉₀), a partir de la regresión lineal de una gráfica del logaritmo de la concentración frente al porcentaje de inhibición.

Las células SW1353 se adquieren de la American Tissue Culture Collection (ATCC) y se cultivan a 37°C en una placa de 6 hoyos con una densidad de 3×10^5 células por hoyo, que contienen 2 ml del medio llamado Dulbecco's modified Eagle's medium (Invitrogen) suplementado con un 10% de suero fetal bovino (Invitrogen) hasta confluencia. A continuación se colocan las células en un medio sin suero a 37°C durante 2 h. Se diluye el compuesto patrón (10 mM) en sulfóxido de dimetilo (DMSO) y se añade a cada hoyo en forma de solución concentrada 1000x en un volumen de 3 μl, se mezcla y se preincuba con las células durante 30 minutos. El vehículo de los compuestos, el DMSO, se mantiene en una concentración final del 0,3% en todas las muestras. Se añade el TNF (Roche Biochem) en forma de solución concentrada 10x preparada en medio de cultivo y se añade en un volumen de 30 μl por hoyo con una concentración final de 1 ng/ml en un volumen total de 300 μl de medio sin suero. Después se incuban las placas de cultivo a 37°C durante 20 minutos. Se elimina el medio de las células, se recogen los lisados celulares en 120 μl de tampón de lisis (Biosource). Se determinan las concentraciones de proteína de las muestras de lisado con un ensayo de Lowry siguiendo las instrucciones de uso del fabricante (Bio-Rad).

Se cargan las muestras de lisados celulares (15 μg de proteínas totales por muestras) en un gel de 10% NuPAGE Bis-Tris (Invitrogen) y se transfieren a una membrana de nitrocelulosa (Invitrogen). Se bloquea la membrana en leche seca del 5% en 1xTBS a t.amb. durante 1 hora. Para determinar los niveles tanto de cJun fosforilado como total en las muestras se prueba la membrana simultáneamente con anticuerpos de conejo anti-p-cjun y de ratón anti-cJun total (Cell Signaling) en tampón de bloqueo Odyssey (Li-cor) con Tween 20 del 0,1 % (Roche Biochem) a 4°C durante una noche.

Se lava la membrana 3 veces en 1xPBS con Tween[®] 20 de 0,1 %. Como anticuerpos secundarios se emplean la IgG de cabra anti-ratón IRDye 700 (Rockland) y la IgG de cabra anticonejo IRDye 800 (Rockland) en una dilución de

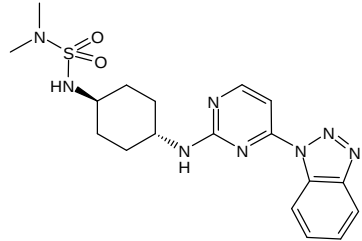
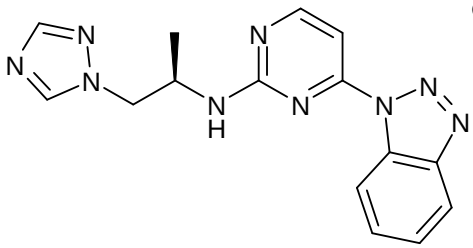
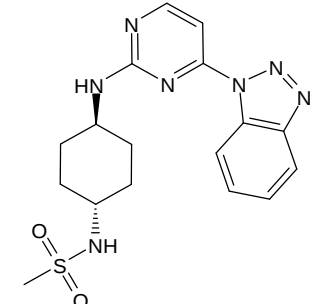
1:6500 en tampón de bloqueo Odyssey. Se escanea la mancha de la membrana y se cuantifica empleando un aparato infrarrojo de escaneo de imágenes del tipo Odyssey Infrared Imager (Li-cor cat. nº 9201).

- 5 Se emplean las intensidades normalizadas de la p-c-Jun frente a la c-Jun total para calcular la IC₅₀ con un programa informático Xlfit3 de Microsoft Excel. Se interpola el valor de la IC₅₀ a partir de la gráfica de la concentración de inhibidor frente al porcentaje de inhibición.

Ejemplo 30

Ensayo JNK "in vitro"

- 10 Se mide la actividad de la JNK por fosforilación de GST-ATF2 (19-96) con ATP-[γ-P³³]. Se realiza la reacción enzimática en concentraciones Km de ATP y el sustrato en un volumen final de 40 µl en un tampón que contiene 25 mM Hepes, pH 7,5, 2 mM ditiotritol, 150 mM NaCl, 20 mM MgCl₂, 0,001% Tween[®] 20, 0,1% BSA y 10% DMSO. El ensayo con JNK2α2 humana se realizan con 1 nM enzima, 1 µM ATF2, 8 µM ATP con 1 µCi de ATP-[γ-P³³]. El ensayo con JNK1α1 humana se realiza con 2 nM enzima, 1 µM ATF2, 6 µM ATP con 1 µCi de ATP-[γ-P³³]. El ensayo con JNK3 (Upstate Biotech nº 14-501M) humana se realiza con 2 nM enzima, 1 µM ATF2, 4 µM ATP con 1 µCi de ATP-[γ-P³³]. El ensayo enzimático se realiza en presencia o ausencia de diez concentraciones de los compuestos. La JNK y el compuesto se preincuban durante 10 minutos. Después se inicia la reacción enzimática por adición de ATP y del sustrato. Se incuba la mezcla reaccionante a 30°C durante 30 minutos. Al término de la incubación, se finaliza la reacción trasvasando 25 µl de la mezcla reaccionante sobre 150 µl de una suspensión de glutatona-Sepharose al 10% (Amersham nº 27-4574-01) que contiene 135 mM EDTA. Se captura el producto de la reacción en una resina de afinidad y se lava en una placa de filtración (Millipore, MABVNOB50) con solución salina tamponada con fosfato por seis veces para eliminar el radionucleótido libre. Seguidamente se cuantifica la incorporación del P³³ en el ATF2 en un contador de centelleo de microplacas (Packard Topcount). La potencia de inhibición que ejerce el compuesto sobre la JNK se mide con el valor de la IC₅₀ generado según la curva de inhibición de las concentraciones ajustada a un modelo de 3 parámetros: % de inhibición = máximo/(1 + (IC₅₀/[inhibidor])^{pendiente}). Los datos se analizan con el programa Microsoft Excel para la estimación de los parámetros.

Ejemplo	p(JNK1)	p(JNK2)
	0,0194	0,0759
 Chiral	0,639	2,2186
	0,0244	0,0973

- 30 Ejemplo 31

Ensayo de producción de IL-6 inducida por TNF α "in vivo" en ratas

Se dejan aclimatar las ratas hembras Wistar-Han, adquiridas a Charles River Laboratories, durante una semana antes de su utilización y alcanzan un peso corporal aproximado de 95-130g. Se administra el compuesto de ensayo a las ratas por vía oral, inyección subcutánea o inyección intravenosa (vena de la cola) 30 min antes de la exposición intraperitoneal a 0.5 μ g de TNF- α recombinante de rata (Biosource). Se recoge sangre por cardiocentesis 90 min después de la inyección del TNF- α . Se prepara el plasma empleando tubos de separación de heparina de litio (microrrecipiente BD) y se congela a -80°C hasta el análisis. Se determinan los niveles de IL-6 utilizando un kit de ensayo ELISA IL-6 específico de las ratas (Biosource). Se determinan el porcentaje de inhibición y los valores de la ED₅₀ (calculados como dosis de compuesto que provoca una reducción del 50 % en la producción del TNF- α con respecto al valor de control).

Ejemplo 32

Artritis de roedores inducida por colágeno

Se aclimatan durante una semana las ratas hembras Lewis, adquiridas a los Harlan Laboratories, de 7-8 semanas de edad, antes de su utilización, que alcanzan un peso corporal aproximado de 120-140 g. En el día 0 del estudio se introduce por vía intradérmica (i.d.) en diversos puntos del lomo de los animales una emulsión de 100 μ g de colágeno bovino de tipo II (Chondrex) en el adyuvante incompleto de Freund (IFA; un total de 0,1 ml en 2-3 sitios). La inducción de la artritis se observa en general al cabo de 12-14 días después de la inyección; se practica además una inyección de refuerzo de 100 μ g de colágeno/IFA al cabo de 7-10 (i.d., hasta 0,1 ml en total) en la base de la cola o en un sitio alternativo del lomo para sincronizar la inducción de la enfermedad. La dosificación del compuesto puede ser profiláctica (iniciada en el momento de la inyección de refuerzo o 1-2 días antes) o terapéutica (empezando en el momento de la inyección de refuerzo y coincidiendo con los grados iniciales de la enfermedad 1-2 –véase la puntuación clínica siguiente). Se evalúan el desarrollo y la progresión de la enfermedad en los animales durante los 21 días siguientes.

Se evalúan las ratas con arreglo a un sistema de puntuación (descrito a continuación), mediciones del volumen de las garras empleando un pletismómetro para cada garra o midiendo la garra o el grosor de la articulación con un calibre. Las mediciones de línea base se realizan el día 0 y se vuelven a iniciar cuando aparecen los primeros síntomas o el hinchamiento hasta tres veces por semana hasta terminar el ensayo. La puntuación de cada garra se realiza del modo siguiente:

1 = hinchamiento y/o rojez de la garra o un dedo.

2 = hinchamiento de dos o más articulaciones.

3 = gran hinchamiento de la garra, que implica a más de dos articulaciones

4 = artritis severa de la totalidad de la garra y de los dedos.

Se evalúa el índice artrítico de cada rata por adición de las cuatro puntuaciones de las garras individuales, que arroja una puntuación máxima de 16. Con el fin de realizar series de mediciones del inicio y de la progresión de la enfermedad se determina también el volumen de las garras traseras con el pletismómetro.

Al finalizar el estudio se recolectan las garras traseras (y otros tejidos) para fines de determinación del peso, histología, análisis celular y/o molecular. Se extrae además sangre mediante cardiocentesis, se prepara el plasma empleando tubos de separación de heparina de litio (microrrecipientes BD) y se congela a -80°C hasta el momento del análisis. Se determinan los niveles inflamatorios de la citocina (p.ej., TNF- α , IL-1 y IL-6) del plasma y del tejido de la articulación homogeneizado empleando kits de ensayo ELISA específicos de las ratas (R&D). Se determina el nivel de protección de la enfermedad o de inhibición en forma de conjunto de cambios en las puntuaciones clínicas, volúmenes de las garras e histopatología por comparación con los valores obtenidos en los animales de control.

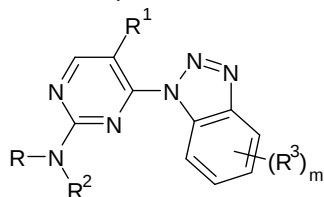
Ejemplo 33

Ensayo de producción de IL-8 en células de condrosarcoma humano SW1353 inducido con TNF α

Se adquieren las células SW1353 de la American Tissue Culture Collection y se mantienen en medio de cultivo, que consta de un medio DMEM (Invitrogen) con un 10% suero fetal bovino (Invitrogen), ácido ascórbico (Sigma) y penicilina (Invitrogen) en condiciones de cultivo a 37°C en un 5% de CO₂. Se reparten las células en las placas con una densidad de $1,0 \times 10^4$ células por hoyo en 100 μ l de medio durante 48 horas antes del tratamiento con los compuestos. Inmediatamente antes del tratamiento con un compuesto, se reemplaza el medio por 160 μ l de medio fresco. Se diluye el compuesto patrón (10 mM) en medio de crecimiento y se añade a cada hoyo en forma de solución concentrada 10 $\times$ en un volumen de 20 μ l, se mezcla y se preincuba con las células durante 30 minutos. Se mantiene el vehículo del compuesto (DMSO) en una concentración final de 1% en todas las muestras. Después de 30 minutos se activan las células con 10 ng/ml de TNF- α (Roche Biochem). Se añade el TNF- α en forma de solución concentrada 10 $\times$ preparada en medio de cultivo y se añade en un volumen de 20 μ l por hoyo. Se cultivan las placas de las células durante 5 horas. Se recolectan los medios con las células y se almacenan a -20°C. Se analizan partes alícuotas de los medios por ensayo ELISA sandwich para determinar la presencia de IL-8 siguiendo las instrucciones del fabricante (BD Bioscience). Se calculan los valores de IC₅₀ como concentración del compuesto, que reduce en un 50 % de la producción de IL-8 con respecto al valor de control empleando el programa informático Xlfit3 sobre un programa Microsoft Excel. En este ensayo, ciertos compuestos tienen un valor de IC₅₀ que se sitúa entre 0,1 y 20 μ M.

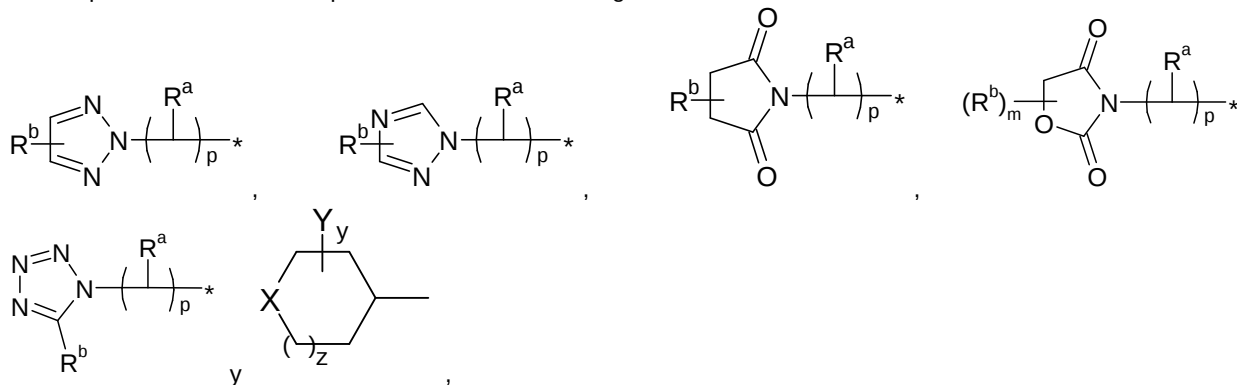
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

R es alquilo inferior, hidroxi-alquilo inferior, o un resto elegido entre:



10 en los que
 cada R^a es con independencia H, alquilo inferior, OH o hidroxi-alquilo inferior;
 cada R^b es con independencia H, alquilo inferior, halógeno, nitro o halo-alquilo inferior;
 pes el número 1, 2, 3 ó 4;
 15 X es O, CR^4R^5 , $C(=O)$ o $S(O)_x$;
 R^1 es hidrógeno, halógeno, alquilo o NH_2 ;
 cada uno de R^3 es con independencia halógeno, $-NO_2$, alquilo inferior, $-CN$, $-OR^7$, $-NR^8R^9$, $-C(O)-R^7$, $-O-C(O)-R^7$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-SO_2-R^{10}$, o dos de R^3 forman alquilenodioxi;
 R^4 es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, $-(CH_2)_nOR^7$, $-(CH_2)_nNR^8R^9$, $-(CH_2)_n-C(O)-NR^8R^9$, $-(CH_2)_n-OC(O)-NR^8R^9$,
 20 $-(CH_2)_n-C(O)-OR^7$, $-NR^7-SO_2-R^{10}$, $-(CH_2)_n-NR^8-C(O)-R^{11}$ o $-(CH_2)_n-NR^8-C(O)-OR^6$;
 R^5 es hidrógeno o alquilo;
 o R^4 y R^5 juntos forman alquilenodioxi;
 R^6 es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo o $-NR^8R^9$;
 R^{10} es alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo o $-NR^8R^9$;
 25 R^{11} es alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo o (heterociclil)alquilo;
 R^2 y R^7 son con independencia entre sí hidrógeno o alquilo inferior;
 R^8 es hidrógeno, alquilo inferior, o acilo;
 R^9 es hidrógeno, alquilo inferior, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, cicloalquilo;
 o R^8 y R^9 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un heterociclilo que contiene por lo menos un
 30 átomo de nitrógeno en el anillo, opcionalmente sustituido por OH, oxo, alquilo inferior, alcoxi inferior o acilo;
 cada uno de m y x es con independencia un número entero de 0 a 2;
 Y es hidrógeno, $-(CH_2)_nOR^7$, $-(CH_2)_n-C(O)-R^7$ o $-(CH_2)_n-C(O)-OR^7$;
 cada uno de y y z es con independencia el número 0 ó 1; y
 n es un número entero de 0 a 4, y alquilo inferior se refiere
 35 a un grupo de alquilo con uno a seis átomos de carbono.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^2 es hidrógeno o metilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que m es el número 0.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 es hidrógeno, metilo, cloro o flúor.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X es CR^4R^5 .

6. El compuesto de la reivindicación 5, en el que R^5 es hidrógeno o metilo.

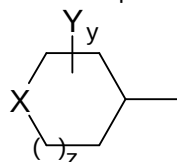
7. El compuesto de la reivindicación 5, en el que z es el número 1 y R^4 es hidrógeno, alquilo inferior, ciano, $-(CH_2)_nOR^7$ o $-(CH_2)_nNR^8R^9$, o R^4 y R^5 forman, juntos, un alquilenodioxo.

5 8. El compuesto de la reivindicación 5, en el que z es el número 1 y R^4 es $-(CH_2)_n-NR^8-C(O)-R^{11}$, en el que n, R^8 y R^{11} tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

9. El compuesto de la reivindicación 5, en el que z es el número 1 y R^4 es $-(CH_2)_n-C(O)-NR^8R^9$.

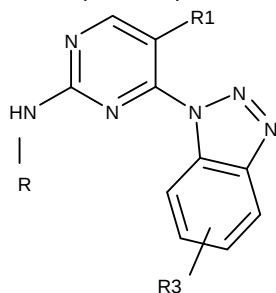
10 10. El compuesto de la reivindicación 1, en el que z es el número 1 y X es O, $C(=O)$ o $-SO_2$.

11. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R es



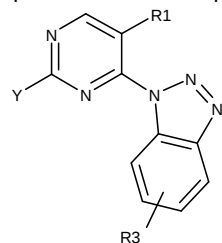
z es el número 1 y X es O o CR^4R^5 .

15 12. Un proceso para la obtención de compuestos de la fórmula (Ia),

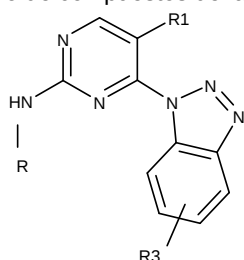


(Ia)

que consiste en un paso de reacción de los compuestos de la fórmula (II),



20 (II)
o de compuestos de la fórmula (III),



(III)

con RNH_2 ,

25 en las que R, $R1$ y $R3$ tienen los significados definidos en la reivindicación 1 e Y es Cl o SMe y Z es $MeSO_2$ o Cl.

13. Composición farmacéutica que contiene un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 14. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para uso como sustancias terapéuticas.

15. Uso del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para la fabricación de medicamentos destinados al tratamiento terapéutico o profiláctico de trastornos mediados por la quinasa c-Jun N-terminal.