

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 203**

51 Int. Cl.:
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 407/14 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05700054 .9**
96 Fecha de presentación: **12.01.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1704145**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.09.2006**

54 Título: **Inhibidores de quinasa selectivos**

30 Prioridad:
12.01.2004 AU 2004900103

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.10.2012

73 Titular/es:
YM BIOSCIENCES AUSTRALIA PTY LTD (100.0%)
2ND FLOOR 499 ST KILDA ROAD,
MELBOURNE, VIC 3004, AU

72 Inventor/es:
STYLES, MICHELLE LEANNE;
ZENG, JUN;
TREUTLEIN, HERBERT, RUDOLF;
WILKS, ANDREW, FREDERICK;
KLING, MARCEL, ROBERT;
BU, XIANYONG y
BURNS, CHRISTOPHER, JOHN

74 Agente/Representante:
UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 389 203 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de quinasa selectivos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de los inhibidores de proteínas tirosina quinasa, en particular a la familia JAK de las proteínas tirosina quinasa.

10 **Antecedentes de la invención**

Las proteínas quinasa son una familia de enzimas que catalizan la fosforilación de residuos específicos en las proteínas. En general, las proteínas quinasa caen en varios grupos; aquellos que preferentemente fosforilan los residuos de serina y/o de treonina, aquellos que preferentemente fosforilan los residuos de tirosina y aquellos que fosforilan los residuos tanto de tirosina como de Ser/Thr. Las proteínas quinasa son, por lo tanto, elementos clave en las rutas de transducción de señales responsables de la transducción de las señales extracelulares, incluyendo la acción de citocinas sobre sus receptores, a los núcleos, desencadenando varios eventos biológicos. Los muchos papeles de las proteínas quinasa en la fisiología celular normal incluyen el control del ciclo celular y el crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis, la movilidad celular y la mitogénesis.

Las proteínas quinasa incluyen, por ejemplo, pero sin limitación, los miembros de la familia de proteínas tirosina quinasa, (PTK), que a su vez puede dividirse en las PTK citoplásmicas y los receptores-PTK (RTK). Las PTK citoplásmicas incluyen la familia SRC, (incluyendo: BLK; FGR; FYN; HCK; LCK; LYN; SRC; YES e YRK); la familia BRK (incluyendo: BRK; FRK, SAD; y SRM); la familia CSK (incluyendo: CSK y CTK); la familia BTK, (incluyendo BTK; ITK; TEC; MKK2 y TXK), la familia Janus quinasa, (incluyendo: JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2), la familia FAK (incluyendo FAK y PTK2); la familia Fes (incluyendo FES y FER), la familia ZAP70 (incluyendo ZAP70 y SYK); la familia ACK (incluyendo ACK1 y ACK2); y la familia Abl (incluyendo ABL y ARG). La familia RTK incluye la familia de receptores de EGF (incluyendo EGFR, HER2, HER3 y HER4); la familia de receptores de insulina (incluyendo INS-R e IGF1-R); la familia de receptores de PDGF (incluyendo PDGPR α , PDGPR β , CSF1R, KIT, FLK2); la familia de receptores de VEGF (incluyendo FLT1, FLK1 y FLT4); la familia de receptores de FGF (incluyendo FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FCFR4); la familia CCK4 (incluyendo CCK4); la familia MET (incluyendo MET y RON); la familia TRK (incluyendo TRKA, TRKB, y TRKC); la familia AXL (incluyendo AXL, MER, y SKY); la familia TTE/TEK (incluyendo TIE y TIE2/TEK); la familia EPH (incluyendo EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB5, EPHB6); la familia RYK (incluyendo RYK); la familia MCK (incluyendo MCK y TYRO10); la familia ROS (incluyendo ROS); la familia RET (incluyendo REI); la familia LTK (incluyendo LTK y ALK); la familia ROR (incluyendo ROR1 y ROR2); la familia Musk (incluyendo Musk); la familia LMR (incluyendo LMR1, LMR2 y LMR3); y la familia SuRTK106 (incluyendo SuRTK106).

De forma análoga, las quinazas específicas de serina /treonina comprenden una serie de subfamilias diferentes, incluyendo: las quinazas reguladas por señal extracelular, (p42/ERK2 y p44/ERK1); quinasa de NH₂-terminal c-Jun (JNK); proteínas quinasa de unión a elemento sensible a cAMP (CREBK); quinasa dependiente de cAMP (CAPK); proteína quinasa activada por proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK y sus parientes); proteína quinasa activada por estrés p38/SAPK2; quinasa activada por mitógeno y por estrés (MSK); proteínas quinasa, PKA, PKB y PKC, entre otros.

Además, los genomas de una serie de organismos patógenos poseen unos genes que codifican para las proteínas quinasa. Por ejemplo, el parásito de la malaria *Plasmodium falciparum* y virus tales como los virus VPH y de la hepatitis parecen portar genes relacionados con la quinasa.

Una actividad de la proteína quinasa inadecuadamente alta ha estado implicada en muchas enfermedades que son resultado de una función celular anómala. Esto podría surgir o bien directa o bien indirectamente, por ejemplo por fallo de los mecanismos de control adecuados para la quinasa, en relación, por ejemplo, con la mutación, sobreexpresión o activación inadecuada de la enzima; o por sobre o subproducción de citocinas o factores de crecimiento que participan también en la transducción de señales aguas arriba o aguas abajo de la quinasa. En la totalidad de estos casos, podría esperarse que la inhibición selectiva de la acción de la quinasa tuviera un efecto beneficioso. Las enfermedades en las que una actividad de la quinasa anómala ha estado implicada incluyen: diabetes; reestenosis; aterosclerosis; fibrosis del hígado y del riñón; enfermedades oculares; trastornos mielo- y linfoproliferativos; cáncer, tal como el cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, leucemia y linfoma; y, enfermedad autoinmunitaria tal como dermatitis atópica, asma, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, síndrome de Crouzon, acondroplasia, y displasia tanatofórica.

La familia JAK de las proteínas tirosina quinasa (PTK) juega un papel central en la regulación dependiente de citocina de la proliferación y función final de varios tipos importantes de células del sistema inmunitario.

Una comparación directa de los cuatro miembros de la familia JAK de mamífero conocidos en la actualidad revela la presencia de siete dominios sumamente conservados (Harpur y col., 1992). Al buscar una nomenclatura para los

dominios sumamente conservados característicos de esta familia de las PTK, la clasificación usada estuvo guiada por el enfoque de Pawson y colaboradores (Sadowski y col., 1986) en su tratamiento de los dominios de homología SRC (SH). Los dominios se han enumerado en consecuencia con la mayor parte del dominio de homología de extremo C-terminal C designado Dominio de homología de JAK 1 (JH1). El siguiente dominio de extremo N-terminal a JH1 es el relacionado con el dominio de quinasa, designado en el presente caso como el dominio JH2. Cada dominio se enumera a continuación hasta el JH7 ubicado en el extremo N-terminal. El alto grado de conservación de estos dominios de homología de JAK (JH) sugiere que es probable que cada uno de éstos juegue un papel importante en los procesos celulares en los que actúan estas proteínas. Sin embargo, los límites de los dominios de homología de JAK son arbitrarios, y pueden o pueden no definir unos dominios funcionales. Sin embargo, su delimitación es un dispositivo útil para ayudar a la consideración de la similitud estructural global de esta clase de proteínas.

El rasgo más característico de la familia JAK de las PTK es la posesión de dos dominios relacionados con la quinasa (JH1 y JH2) (Wilks y col., 1991). El dominio de PTK putativo de JAK1 (JH1) contiene motivos sumamente conservados típicos de los dominios de PTK, incluyendo la presencia de un residuo de tirosina en la posición 1022 ubicado 11 residuos de manera C-terminal hacia el subdominio VII, lo que se considera un diagnóstico de pertenencia de la clase específica de tirosina del Alineamiento de proteínas quinasa del dominio PTK de JAK1 humano (255 aminoácidos), con otros miembros de la clase PTK de las proteínas reveló homología con otras PTK funcionales (por ejemplo, un 28 % de identidad con c-fes (Wilks y Kurban, 1988) y un 37 % de homología con TRK (Kozma y col., 1988)). Los dominios de JH1 de cada uno de los miembros de la familia JAK poseen una idiosincrasia interesante dentro del motivo de subdominio VIII sumamente conservado (residuos 1015 a 1027 en JAK2), que se cree que se encuentra cerca del sitio activo, y que define especificidad de sustrato. Los residuos de fenilalanina y de tirosina que flanquean el triptófano conservado en este motivo son únicos para la familia JAK, de las PTK. Aparte de este elemento, los dominios de JH1 de cada uno de los miembros de la familia JAK son unos dominios de PTK típicos. Además, hay una identidad de secuencia en la familia JAK, particularmente en y alrededor del sitio de unión de ATP (figura 1).

El papel central que juega la familia JAK de las proteínas tirosina quinasa en la regulación dependiente de la citocina de la proliferación y la función final de varios tipos importantes de células significa que los agentes que inhiben JAK son útiles en la prevención y la quimioterapia de patologías que dependen de estas enzimas. Unos inhibidores potentes y específicos de cada uno de los cuatro miembros de la familia JAK conocidos en la actualidad proporcionará un medio de inhibición de la acción de aquellas citocinas que dirigen patologías inmunitarias, tal como asma, y como agentes inmunosupresores para, entre otros, trasplantes de órganos, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes de tipo I y complicaciones de diabetes, cáncer, dermatitis atópica, trastornos de tiroides autoinmunitarios, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad de Alzheimer y leucemia/ linfoma.

La ruta JAK/ STAT

La delimitación de una ruta de transducción de señales particularmente elegante aguas abajo de los receptores de citocina no de proteína tirosina quinasa se ha logrado recientemente. En la presente ruta, los componentes clave son: (i) Una cadena (o cadenas) de receptor de citosina, tal como el receptor de la interleucina-4 o el receptor del interferón γ ; (ii) un miembro (o miembros) de la familia JAK de las PTK; (iii) un(os) miembro(s) de la familia STAT, de factores de transcripción, y (iv) un elemento de ADN específico de secuencia al que se unirá la STAT activada.

Una revisión de la bibliografía de JAK/ STAT ofrece un fuerte apoyo a la idea de que la presente ruta es importante para la recuperación y movilización de la respuesta inmunitaria del huésped a las agresiones ambientales, tal como infección vírica y bacteriana. Esto se ilustra bien en la tabla 1 y la tabla 2. La información acumulada a partir de experimentos de anulación de genes ha subrayado la importancia de los miembros de la familia JAK para la señalización intracelular que se desencadena por una serie de importantes citocinas de regulación inmunitaria. Las posibilidades terapéuticas que se derivan de la inhibición (o potenciación) de la ruta JAK/ STAT se encuentran de este modo en gran medida en el ámbito de la modulación inmunitaria, y en ese sentido es probable que sean fármacos prometedores para el tratamiento de una gama de patologías en esta área. Además de las enfermedades enumeradas en las tablas 1 y 2, los inhibidores de JAK podrían usarse como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos y enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, diabetes de tipo I, trastornos de tiroides autoinmunitarios, enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades autoinmunitarias. Además, está indicado el tratamiento de cánceres, tal como el cáncer de próstata, por inhibidores de JAK.

Tabla 1 – Activación de la ruta JAK/ STAT en varias patologías

Tipo de enfermedad	Tipos de células implicadas	Características
Atopia asma alérgico dermatitis atópica (eczema) rinitis alérgica	(mastocitos eosinófilos células T células B	activación de células T de las células B seguido de activación mediada por IgE de eosinófilos y mastocitos residentes

Tipo de enfermedad	Tipos de células implicadas	Características
<i>Hipersensibilidad mediada por células</i> dermatitis alérgica de contacto neumonitis por hipersensibilidad	(células T células B)	hipersensibilidad de células T
<i>Enfermedades reumáticas</i> Lupus eritematoso sistémico (SLE) artritis reumatoide artritis juvenil síndrome de Sjögren esclerodermia polimiositis espondilitis anquilosante artritis psoriásica	(monocitos (macrófagos (neutrófilos (mastocitos (eosinófilos (células T (células B)	producción de citocinas (por ejemplo, TNF, IL-1, CSF-1, GM-CSF) activación de células T activación de JAK/ STAT
<i>Transplante</i> rechazo de transplante	células T y células B	activación de JAK/ STAT
enfermedad de injerto contra huésped	células T y células B	activación de JAK/ STAT
<i>Enfermedades virales</i> virus de Epstein Barr (EBV) hepatitis B hepatitis C VIH VLTH 1 virus Varicela-Zóster (VZV) virus del papiloma humano (VPH)	linfocitos hepatocitos hepatocitos linfocitos linfocitos fibroblastos células epiteliales	activación de JAK/ STAT activación de JAK/ STAT inhibición de JAK/ STAT activación de JAK/ STAT activación de JAK/ STAT inhibición de JAK/ STAT inhibición de JAK/ STAT
<i>Cáncer</i> leucemia linfoma	leucocitos linfocitos	(producción de citocinas (activación de JAK/ STAT

Tabla 2: Enfermedades potencialmente tratables mediante terapias de Fármaco basadas en JAK

Enfermedad objetivo	Citocina	miembro de la familia JAK	Fuerza de Asociación
asma	IL-4 e IL-9	JAK1 y JAK3	+++
	IL-13	JAK1 y JAK2	+++
	IL-5	JAK2	+++
eczema	IL-4	JAK1 y JAK3	+++
	IFN- α	JAK1 y JAK2	+++
alergia alimentaria	IL-4	JAK1 y JAK3	+++
enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn	IL-4	JAK1 y JAK3	+++
leucemia y linfoma	(IL-2)	JAK3, JAK1 y JAK2	+++
transplante			
<i>Maduración de células B</i>	IL-4	JAK1 y JAK3	+++
<i>Proliferación de células T</i>	IL-2	JAK1 y JAK3	+++
Inflamación cutánea	CM-CSF e IL-6	JAK1 y JAK2	+++
supresión inmunitaria por tumor sólido	IL-10	JAK1 y TYK2	+++
cáncer de próstata	IL-6	JAK1, JAK2 y Tyk2	+++

Señalización de Jak 3

5

A pesar de que los otros miembros de la familia Jak se expresan esencialmente mediante todo el tejido, parece que la expresión de JAK3 está limitada a las células hematopoyéticas. Esto es consistente con su papel esencial en la señalización a través de los receptores para IL-2, IL4, IL-7, IL-9 e IL-15 mediante una asociación no covalente de JAK3 con la cadena gamma común a estos receptores de múltiple cadena. Los machos con una inmunodeficiencia combinada severa ligada al cromosoma X (XSCID) presentan defectos en el gen de la cadena gamma (gamma c) de receptor de citocina común que codifica para un componente esencial y compartido de los receptores de interleucina-2 (IL-2), IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15. Se ha identificado un síndrome de XSCID en el que los pacientes con unos niveles o bien mutados o bien gravemente reducidos de proteína JAK3, lo que sugiere que la inmunosupresión debería ser el resultado del bloqueo de la señalización a través de la ruta JAK3. Los estudios de anulación de genes en ratones han sugerido que JAK3 no sólo juega un papel crucial en la maduración de los linfocitos B y T, sino que JAK3 se requiere de forma constitutiva para mantener la función de las células T. Tomado junto con la evidencia bioquímica para la implicación de JAK3 en la señalización de eventos aguas abajo del receptor IL-2 e IL-4, estos estudios de mutación en humanos y ratones sugieren que la modulación de la actividad

10

15

inmunitaria a través de la inhibición de JAK3 podrían mostrarse útiles en el tratamiento de trastornos proliferativos de células T y células B, tales como rechazo de trasplante y enfermedades autoinmunitarias.

- 5 Una inmunomodulación prolongada a través de la inhibición de la señalización de JAK3 debería tener un gran potencial terapéutico a condición de que la inhibición de JAK3 se consiga de forma selectiva y no acompañada por la inhibición de otro proceso de señalización dependiente de la quinasa. En particular, el alto grado de identidad de secuencia que tienen en común los miembros de la familia JAK de quinasa plantea la posibilidad de que un compuesto que inhibe Jak3 inhibiría también otros miembros de la familia con unas consecuencias a largo plazo perjudiciales. Por ejemplo, es probable que la inhibición prolongada de Jak2 conduzca a eritropenia y trombocitopenia, debido a que los receptores tanto para la eritropoyetina como para la trombopoyetina usan sólo JAK2 para transmisión intracelular de señales.

Inhibición selectiva e irreversible

- 15 Una PTK cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde una molécula de ATP hasta un residuo de tirosina que se encuentra en un sustrato de proteína. Los inhibidores que se conocen en la técnica son habitualmente competitivos o bien con el ATP o bien con el sustrato de proteína de la quinasa (Levitzi 2000). Debido a que la concentración de ATP en una célula es normalmente muy alta (milimolar), los compuestos que son competitivos con ATP pueden carecer de actividad *in vivo* debido a que es poco probable que dichos compuestos puedan alcanzar las concentraciones dentro de la célula que son necesarias para desplazar el ATP de su sitio de unión.

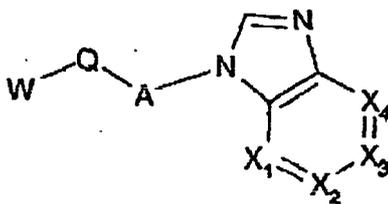
- 20 Un enfoque alternativo que se ha intentado en relación con EGFR es el diseño o la selección de los compuestos que se unen a EGFR TK en de manera irreversible. Tales compuestos se dan a conocer en Fry 1998; Discafani 1999; Smaill 1999; Smaill 2000; Tsou 2001; Smaill 2001; Wissner 2003. Estos compuestos funcionan como inhibidores irreversibles en virtud del hecho de que éstos pueden formar enlaces covalentes con residuos de aminoácido ubicados en el sitio activo de la enzima, lo que da como resultado una potencia aumentada de los compuestos *in vitro* y en la inhibición del crecimiento de los tumores humanos en los modelos *in vivo* de cáncer. Un beneficio adicional de tales inhibidores irreversibles cuando se compara con los inhibidores reversibles, es que los inhibidores irreversibles pueden usarse en la supresión prolongada de la tirosina quinasa, limitado sólo por la velocidad normal de renovación de receptor.

- 30 La alta homología entre los miembros de la familia JAK de quinasa hace el diseño de los compuestos con una selectividad aceptable sumamente difícil. Se cree que el aprovechamiento de las pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos entre los miembros de esta familia puede permitir la identificación de inhibidores selectivos. El alineamiento de los cuatro miembros de la familia JAK de las proteínas tirosina quinasa revela que, dentro de los aminoácidos que comprenden el bolsillo de unión de ATP de estas quinasa, hay muy pocas diferencias de aminoácido que pudieran usarse para dirigir los inhibidores potenciales hacia un miembro u otro de la familia. Resulta interesante que sólo JAK3 entre esta subfamilia de quinasa posee un residuo de cisteína cerca del borde frontal de la cavidad de unión a ATP. Se planteó que esto puede proporcionar un medio para desarrollar un inhibidor de JAK3 irreversible sumamente específico (figura 2), seleccionando como objetivo esta cisteína con una funcionalidad que porta un grupo alquilante, tal como un aceptor de Michael.

Sumario de la invención

- 45 Los inventores de la presente invención han encontrado que un grupo de los compuestos basados en una estructura heterocíclica disustituida, los cuales incluyen un grupo alquilante, tal como un aceptor de Michael, son inhibidores irreversibles y selectivos de la enzima Janus Quinasa 3 y que también tienen aplicaciones en terapia como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes de tipo I y complicaciones de diabetes, asma, dermatitis atópica, trastornos de tiroides autoinmunitarios, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, y otras indicaciones en las que sería deseable la inmunosupresión. Además, se cree que estos compuestos pueden encontrar aplicación en tratamientos terapéuticos para enfermedades proliferativas y cánceres tales como leucemia y linfoma, en las que JAK3 está hiperactivado y en enfermedades tales como la enfermedad de Alzheimer.

- 55 Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula general I



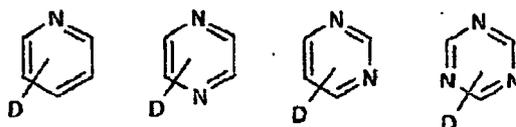
I

o profármacos, sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas o diastereómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que:

5 cada uno de X_1, X_2, X_3, X_4 es carbono, en el que uno está sustituido con Z y el resto independientemente con Y; o uno de X_1, X_2, X_3, X_4 es N, y los otros son carbono, en el que un carbono está sustituido con Z y el resto independientemente con Y;

A es un anillo que está seleccionado de:

10



en el que D está seleccionado de H, alquilo C_{1-4} , halógeno, amino;

15 Q es un enlace, halógeno, alquilo C_{1-4} , O, S, SO, SO_2 , CO, CS;

W es:

20 (i) NR_1R_2 , en el que R_1 y R_2 son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquilo $C_{1-4}-CF_3$, arilo, hetarilo, alquilarilo C_{1-4} , alquilhetarilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-8} , alquenilo C_{2-6} , ciclohealquilo alquilo C_{1-4} -cicloalquilo, alquilo C_{1-4} ciclohetalquilo, o R_1 y R_2 se unen para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR_3 ; y R_3 está seleccionado de H, alquilo C_{1-4} , arilo, hetarilo, alquilarilo C_{1-4} , alquilhetarilo C_{1-4} , COR_4 en el que R_4 está seleccionado de H, alquilo C_{1-4} , arilo, hetarilo;

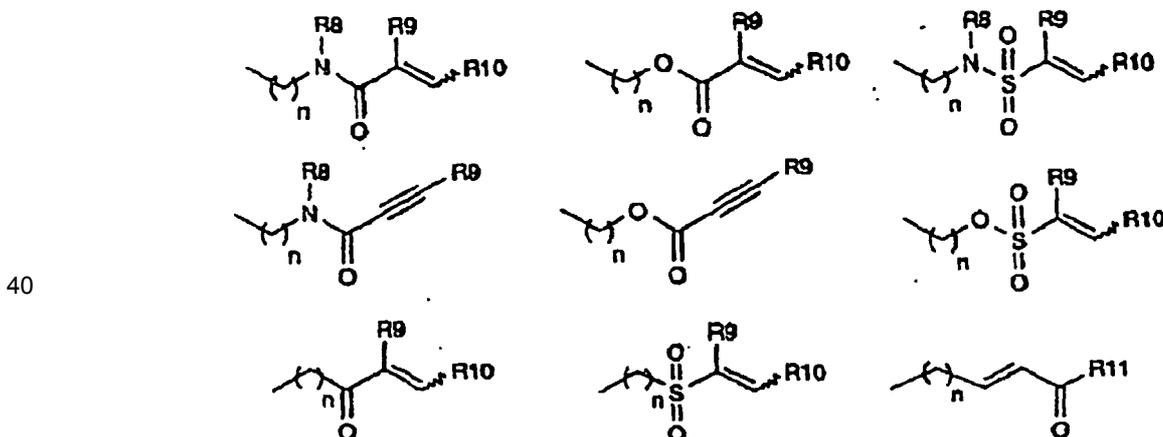
25 O

(ii) H, alquilo C_{1-4} , arilo, hetarilo, cicloalquilo C_{3-8} , ciclohetalquilo, alquilarilo C_{1-4} , alquilhetarilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-8} , alquilo C_{1-4} -cicloalquilo, alquilo C_{1-4} ciclohetalquilo;

30 Y es H, halógeno, CN, CF_3 , nitro, OH, alquilo C_{1-4} , alquilo $C_{1-4}-NR_5R_6$, alquilhetarilo C_{1-4} , O-alquilo C_{1-4} , O-alquilo C_{2-4} -O-alquilo C_{1-4} , O-alquilo $C_{1-4}-NR_5R_6$, O-alquilhetarilo C_{1-4} , O-alquilo C_{1-4} -ciclohetalquilo, S-alquilo C_{1-4} , S-alquilo C_{2-4} -O-alquilo C_{1-4} , S-alquilo $C_{1-4}-NR_5R_6$, NR_5R_6 , NR_5COR_6 , $NE_5SO_2R_6$; y cada uno de R_5 y R_6 es independientemente H, alquilo C_{1-4} , o pueden unirse para formar un anillo de 3-6 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR_7 y R_7 está seleccionado de H, alquilo C_{1-4} , arilo, hetarilo, alquilarilo C_{1-4} , alquilhetarilo C_{1-4} ;

35

Z está seleccionado de:



en el que R_8 está seleccionado de H, alquilo C_{1-4} ;

45 R_9 y R_{10} están seleccionados independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquilo $C_{1-4}-NR_{12}R_{13}$, alquilo $C_{1-4}-OR_{12}$, alquilhetarilo C_{1-4} , R_{11} está seleccionado de OH, O-alquilo C_{1-4} , $NR_{12}R_{13}$;

n es 0-4;

en el que R12 y R13 están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR14; y R14 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄.

5 En un segundo aspecto, la presente invención consiste en una composición que comprende un vehículo y al menos un compuesto del primer aspecto de la invención.

En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición del segundo aspecto en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una patología que está seleccionada del grupo que consiste en atopia, hipersensibilidad mediada por células, enfermedades reumáticas, trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades virales, enfermedades proliferativas y cáncer.

15 En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición del segundo aspecto en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una patología que está seleccionada del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, asma, eccema, alergia alimentaria, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, inflamación cutánea y supresión inmunitaria por tumor sólido.

20 En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición del segundo aspecto en la preparación de un medicamento para su uso como un agente inmunosupresor.

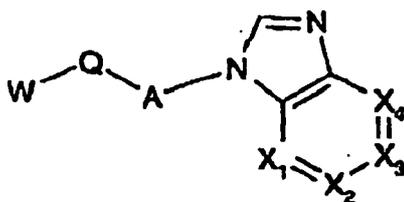
Breve descripción de las figuras

25 la figura 1 muestra el alineamiento de la secuencia de aminoácidos de quinasas Jak seleccionadas

la figura 2 muestra un modelo del bolsillo de unión de ATP de quinasa Jak3 que muestra el residuo de cisteína.

Descripción detallada de la invención

Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula general I

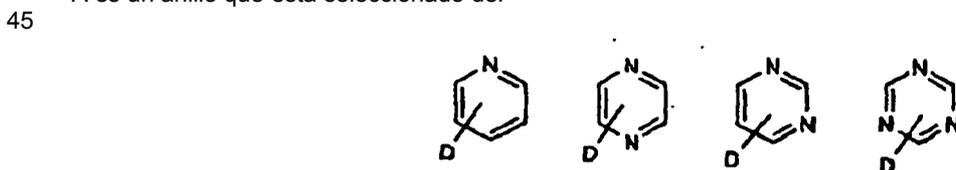


I

35 o profármacos, sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas o diastereómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que:

40 cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es carbono, en el que uno está sustituido con Z y el resto independientemente con Y; o uno de X₁, X₂, X₃, X₄ en N, y los otros son carbono, en el que un carbono está sustituido con Z y el resto independientemente con Y;

A es un anillo que está seleccionado de:



en el que D está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, halógeno, amino;

50 Q es un enlace, halógeno, alquilo C₁₋₄, O, S, SO, SO₂, CO, CS;

W es:

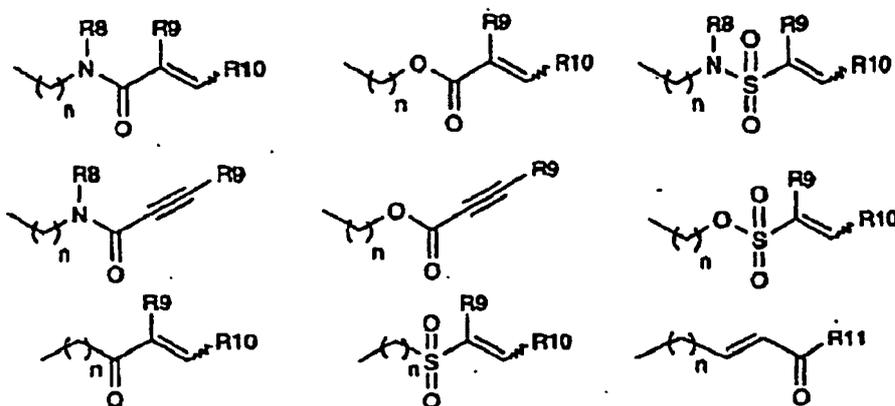
(i) NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente H, C₁₋₁ alquilo, alquilo C₁₋₄-CF₃, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alqueno C₂₋₆, ciclohetalquilo, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo, o R₁ y R₂ se unen para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₃; y R₃ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, COR₄ en el que R₄ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo;

O

(ii) H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, cicloalquilo C₃₋₈, ciclohetalquilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo;

Y es H, halógeno, CN, CF₃, nitro, OH, C₁₋₁ alquilo, alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, O-alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-ciclohetalquilo, S-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, NR₅R₆, NR₅COR₆, NR₅SO₂R₆; y cada uno de R₅ y R₆ es independientemente H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-6 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₇ y R₇ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄;

Z está seleccionado de:



en el que R₈ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄;

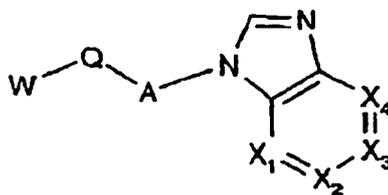
R₉ y R₁₀ están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR₁₂R₁₃, alquilo C₁₋₄-OR₁₂, alquilhetarilo C₁₋₄;

R₁₁ está seleccionado de OH, O-alquilo C₁₋₄, NR₁₂R₁₃;

n es 0-4;

en el que R₁₂ y R₁₃ están seleccionados independientemente de H, alquilo C₂₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₁₄; y R₁₄ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄

En una realización preferida el compuesto está seleccionado de los compuestos de fórmula general II.

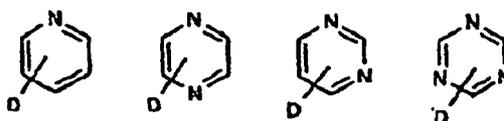


II

o profármacos, sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas o diastereómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que:

cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es carbono, en el que uno está sustituido con Z y el resto independientemente con Y; o uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es N, y los otros son carbono, en el que un carbono está sustituido con Z y el resto independientemente con Y;

5 A es un anillo que está seleccionado de:



en el que D está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, halógeno, amino;

10

Q es un enlace, halógeno, alquilo C₁₋₄, O, S, SO, SO₂, CO, CS;

W es:

15

(i) NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alqueno C₂₋₆, ciclohetalquilo, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo, o R₁ y R₂ se unen para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₃; y R₃ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, COR₄ en el que R₄ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo;

20

O

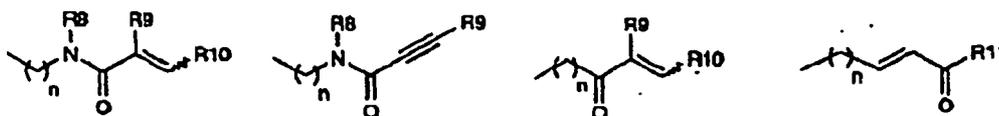
(ii) W es H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, cicloalquilo C₃₋₆, ciclohetalquilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo;

25

Y es H, halógeno, CN, CF₃, nitro, OH, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, O-alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-ciclohetalquilo, S-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₁₋₄-NR₅K₆, NR₅R₆, NLCOR₆, NR₅SO₂R₆; y cada uno de R₅ y R₆ es independientemente H, C₃₋₄ alquilo, o pueden unirse para formar un anillo de 3-6 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₇ y R₇ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, heterilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄;

30

Z está seleccionado de;



35

en el que R₈ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄;

40

R₉ y R₁₀ están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR₁₂R₁₃, alquilo C₁₋₄-OR₁₂, alquilhetarilo C₁₋₄

R₁₁ está seleccionado de OH, O-alquilo C₁₋₄, NR₁₂R₁₃;

n es 0-4;

45

en el que: R₁₂ y R₁₃ están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₁₄, y R₁₄ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄.

50 En la descripción anterior se apreciará que:

alquilo C₁₋₄ significa una cadena de alquilo recta o ramificada no sustituida o opcionalmente sustituida.

Arilo significa fenilo o naftilo no sustituido o opcionalmente sustituido.

55

Hetarilo significa un anillo heteroaromático de 5 o 6 miembros no sustituido o opcionalmente sustituido que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, N, S.

Cicloalquilo significa un anillo saturado de 3–8 miembros.

Ciclohetalquilo significa un anillo saturado de 3–8 miembros que contiene 1–3 heteroátomos seleccionados de O, S, NR15, donde R15 es H, alquilo C_{1–4}, arilo, hetarilo.

Los sustituyentes son elegidos entre halógeno, alquilo C_{1–4}, CF₃, CN, nitro, arilo, hetarilo, OCF₃, O–alquilo C_{1–4}, O–alquilo C_{2–5}–NR1617, O–arilo O–hetarilo, CO₂R16, CONR16R17, nitro, NR16R17, NR16COR17, NR16SO₂R17; y cada uno de R16, R17 es independientemente H, alquilo C_{1–4}, alquilo C_{1–4} cicloalquilo, alquilo C_{1–4} ciclohetalquilo, arilo, hetarilo, alquilarilo C_{1–4}, alquilhetarilo C_{1–4}, o pueden unirse para formar un anillo de 3–8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR18; y R18 está seleccionado de H, alquilo C_{1–4}, arilo, hetarilo, alquilarilo C_{1–4}, alquilhetarilo C_{1–4}.

Los compuestos de fórmula I puede inhibir de forma irreversible JAK 3. En general, la fuerza de unión de inhibidores reversibles de una enzima se mide por el valor de IC₅₀, el cual es un reflejo de la constante de equilibrio de la interacción entre el inhibidor y el sitio activo de la enzima. Los inhibidores irreversibles muestran un IC₅₀ aparente debido a que una vez que el inhibidor está unido, éste no dejará el sitio activo y el IC₅₀ medido por lo tanto mejorará (es decir, el número disminuirá), con el tiempo. Por ejemplo, el compuesto del ejemplo 20 muestra una “IC₅₀” de ~ 40 nM después de una incubación con enzima de 20 minutos (antes de la adición de ATP) mientras que la “IC₅₀” cae a 7 nM después de una incubación previa de 90 min.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I inhibe de forma selectiva JAK 3 con respecto a JAK 1 o JAK 2. La expresión “inhibe de forma selectiva” se define como que significa que el IC₅₀ aparente del compuesto para JAK 3 es más de 10 veces menor (es decir, más potente) que el IC₅₀ para JAK 1 o JAK 2.

Los compuestos de esta invención incluyen todos los isómeros conformacionales (por ejemplo, isómeros cis y trans). Los compuestos de la presente invención tienen centros asimétricos y, por lo tanto, existen en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas. Esta invención se refiere al uso de todos los isómeros y estereoisómeros ópticos de los compuestos de la presente invención, y mezclas de los mismos, y a todas las composiciones farmacéuticas que pueden emplear o contener éstos. Los compuestos de fórmula I también pueden existir en forma de tautómeros. Esta invención se refiere al uso de la totalidad de tales tautómeros y mezclas de los mismos.

Esta invención también describe unas composiciones farmacéuticas que contienen dichos profármacos de los compuestos de la fórmula I. Los compuestos de fórmula I que tienen grupos amino o hidroxilo libres pueden convertirse en profármacos. Los profármacos incluyen compuestos en los que un residuo de aminoácido, o una cadena de polipéptido de dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) residuos de aminoácido se une covalentemente a través de enlaces de polipéptido a grupos amino o hidroxilo libres de los compuestos de fórmula I. Los residuos de aminoácido incluyen los 20 aminoácidos que se encuentran en la naturaleza, designados comúnmente por tres símbolos de letra y también incluyen 4–hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3–metilhistidina, norvlin, beta–alanina, ácido gamma–aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metionina sulfona. Los profármacos también incluyen compuestos en los que carbonatos, carbamatos, amidas y ésteres de alquilo están unidos covalentemente a los sustituyentes anteriores de fórmula I a través de la cadena lateral de profármaco de carbono carabonílico. Los profármacos también incluyen derivados de fosfato de los compuestos de fórmula I (tal como ácidos, sales de ácidos o ésteres) unidos a través de un enlace fósforo–oxígeno a un hidroxilo libre de los compuestos de fórmula I.

Cuando el compuesto posee un centro quiral, el compuesto puede usarse como un isómero purificado o como una mezcla de cualquier relación de isómeros. Se prefiere, no obstante, que la mezcla comprenda por lo menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 % o un 99 % del isómero preferido.

En una realización aún más preferida, el compuesto está seleccionado de los compuestos que se exponen en los ejemplos. Más preferiblemente, el compuesto está seleccionado de los compuestos que se exponen en la tabla 3.

En un segundo aspecto, la presente invención consiste en una composición que comprende un vehículo y al menos un compuesto del primer aspecto de la invención.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de los compuestos del primer aspecto o de las composiciones del segundo aspecto en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una patología que está seleccionada del grupo que consiste en atopía, tal como asma alérgico, dermatitis atópica (eczema) y rinitis alérgica; hipersensibilidad mediada por células, tal como dermatitis alérgica de contacto y neumonitis por hipersensibilidad; enfermedades reumáticas, tal como Lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis reumatoide, artritis juvenil, síndrome de Sjögren, esclerodermia, polimiositis, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica; otras enfermedades autoinmunitarias tales como diabetes de tipo I, trastornos de tiroides autoinmunitarios y la enfermedad de Alzheimer; enfermedades virales, tal como el virus de Epstein Barr (EBV), hepatitis B, hepatitis C, VIH, VLTH1, virus Varicela–Zóster (VZV), virus del papiloma humano (VPH), cáncer, tal como leucemia, linfoma y cáncer de próstata.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión “patología asociada a la tirosina quinasa” se refiere a aquellos trastornos que resultan de una actividad de la tirosina quinasa anómala, en particular actividad de JAK y/o que se mitigan por la inhibición de una o más de estas enzimas.

- 5 En un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de los compuestos que se describen en la preparación de un medicamento para su uso como un agente inmunosupresor.

10 Preferiblemente, el agente inmunosupresor es para el tratamiento de patologías que están seleccionados de trasplantes de órganos, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes de tipo I y complicaciones de diabetes, cáncer, asma, dermatitis atópica, trastornos de tiroides autoinmunitarios, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, y enfermedad de Alzheimer.

15 La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno de los compuestos de la fórmula I o II capaces de tratar un trastorno asociado con JAK3 en una cantidad efectiva para el anterior, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones de la presente invención pueden contener otros agentes terapéuticos tales como se describe a continuación, y pueden formularse, por ejemplo, empleando vehículos o diluyentes sólidos o líquidos convencionales, así como aditivos farmacéuticos de un tipo apropiado para el modo de administración deseado (por ejemplo, excipientes, aglutinantes, conservantes, estabilizadores, aromas, etc.) de acuerdo con unas técnicas tales como aquellas que se conocen bien en la técnica de la formulación farmacéutica.

20 Los compuestos de la fórmula I o II pueden administrarse por cualquier medio adecuado, por ejemplo, por vía oral, tal como en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos o polvos; por vía sublingual; por vía bucal; por vía parenteral, tal como por técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, o intracisternal (por ejemplo, como disoluciones o suspensiones acuosas o no acuosas inyectables estériles); por vía nasal, tal como por nebulización para inhalación; por vía tópica, tal como en forma de una crema o pomada; o por vía rectal, tal como en forma de supositorios; en formulaciones de dosis unitaria que contienen vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Los compuestos pueden, por ejemplo, administrarse en una forma adecuada para la liberación inmediata o la liberación extendida. La liberación inmediata o la liberación extendida pueden conseguirse mediante el uso de composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden los presentes compuestos, o, en particular en el caso de la liberación extendida, mediante el uso de dispositivos tales como implantes subcutáneos o bombas osmóticas.

25 Puede tratarse una variedad de otros mamíferos además de primates, tal como humanos, de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, pueden tratarse los mamíferos, incluyendo, pero sin limitación, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, cobayas, ratas u otras especies bovinas, ovinas, equinas, caninas, felinas, murinas o de roedores. Sin embargo, el tratamiento puede ponerse en práctica también en otras especies, tal como especies aviares (por ejemplo, pollos).

30 Las enfermedades y afecciones asociadas con inflamación e infección pueden tratarse usando la presente invención. La enfermedad o afección puede ser una en la que las acciones de eosinófilos y/o linfocitos van a inhibirse o promoverse, con el fin de modular la respuesta inflamatoria.

35 Los sujetos tratados, en los que se desea la inhibición de JAK3, son mamíferos, incluyendo pero sin limitación, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, cobayas, ratas u otras especies bovinas, ovinas, equinas, caninas, felinas, murinas o de roedores, y preferiblemente un ser humano, varón o hembra.

40 La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” significa la cantidad de la composición objeto que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscada por el investigador, veterinario, médico u otro profesional de la salud.

45 La expresión “composición” tal como se usa en el presente documento pretende incluir un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Mediante “farmacéuticamente aceptable” se pretende indicar que el vehículo, diluyente o excipiente ha de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no con el destinatario del mismo.

50 Las expresiones “administración de” y o “administrar un” compuesto ha de entenderse que significa proporcionar un compuesto de la invención al individuo que necesita el tratamiento.

55 Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención pueden presentarse de forma conveniente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los procedimientos que se conocen bien en la técnica de la farmacia. Todos los procedimientos incluyen la etapa de poner el ingrediente activo en asociación con el vehículo que constituye uno o más ingredientes secundarios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo el ingrediente activo uniforme y íntimamente en asociación con un vehículo líquido o vehículo sólido finamente dividido o ambos y, a continuación, si es necesario, conformar el producto en la

5 formulación deseada. En la composición farmacéutica, el compuesto objeto activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o el estado de las enfermedades. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "composición" pretende incluir un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

10 Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar una forma adecuada para su uso oral, por ejemplo, como comprimidos, pastillas, pastillas para chupar, suspensiones acuosas o oleosas, gránulos o polvos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones previstas para su uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier procedimiento conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes que están seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar unas preparaciones farmacéuticamente elegantes y apetitosas. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con unos excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tal como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; y agentes de granulación y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o éstos pueden estar recubiertos por técnicas conocidas para retardar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de este modo una acción sostenida a lo largo de un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Éstos pueden estar recubiertos también para formar unos comprimidos terapéuticos osmóticos para controlar la liberación.

25 Las formulaciones para su uso oral pueden presentarse también como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio de aceite, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

30 Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de las suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinil-pirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; los agentes de dispersión o humectantes pueden ser un fostátido que se encuentra en la naturaleza, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o un producto de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como el sorbitol monooleato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo sorbitán monooleato de polietileno. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo etilo, o n-propilo, p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tal como sacarosa o sacarina.

45 Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes, tal como los que se exponen anteriormente, y agentes aromatizantes, para proporcionar una preparación oral apetitosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

50 Los gránulos y polvos dispersables adecuados para preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente de dispersión o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados se ilustran mediante los que ya se mencionan anteriormente. Pueden estar presentes también excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

55 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar también en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de los anteriores. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo goma arábiga o goma de tragacanto, fostátidos que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo sorbitán monooleato, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo sorbitán monooleato de polioxietileno. Las emulsiones pueden contener también agentes edulcorantes y aromatizantes.

65 Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener también un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y

colorantes.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión inyectable estéril acuosa o oleosa. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida, usando los agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable por vía parenteral no tóxico, por ejemplo como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la disolución de Ringer y disolución de cloruro de sodio isotónica. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como un medio de suspensión o disolvente. Para el presente fin, cualquier aceite fijo blando puede emplearse, incluyendo mono- o diglicéridos sintético. Además, los ácidos grasos, tal como ácido oleico, encuentran uso en la preparación de preparaciones inyectables.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse también en estas formas de supositorios para la administración oral del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias, pero líquido a la temperatura rectal y se fundirá, por lo tanto, en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales son la manteca de cacao y polietilenglicoles.

Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, jaleas, disoluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos de la presente invención (para los fines de la presente solicitud, la aplicación tópica incluirá enjuagues bucales y gárgaras.)

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse también en forma de liposomas. Tal como se conoce en la técnica, los liposomas son en general derivados de fosfolípidos o otras sustancias lipídicas. Los liposomas están formados por cristales líquidos hidratados mono- o multilaminares que están dispersados en un medio acuoso. Puede usarse cualquier lípido no tóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposoma pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizadores, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y fosfatidilcolinas, tanto naturales y sintéticos. En la técnica se conocen procedimientos para formar liposomas.

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender además otros compuestos terapéuticamente activos, tal como se indica en el presente documento, que se aplican habitualmente en el tratamiento de las afecciones patológicas que se mencionan anteriormente. La selección de los agentes apropiados para su uso en una terapia de combinación puede hacerse por un experto en la técnica, de acuerdo con unos principios farmacéuticos convencionales. La combinación de agentes terapéuticos puede actuar de forma sinérgica para afectar al tratamiento o la prevención o los varios trastornos que se describen anteriormente. Usando el presente enfoque, se puede ser capaz de conseguir una eficacia terapéutica con unas dosificaciones menores de cada agente, reduciendo de este modo el potencial para efectos secundarios adversos.

Los ejemplos de otros agentes terapéuticos incluyen los siguientes:

ciclosporinas (por ejemplo, ciclosporina A), CTLA4-Ig, anticuerpos tales como ICAM-3, anti-receptor de IL-2 (anti-Tac), anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3 (OKT-3), anti-CD4, anti-CD80, anti-CD86, agentes que bloquean la interacción entre CD40 y gp39, tal como anticuerpos específicos para CD40 y/o gp39 (es decir, CD154), proteínas de fusión construidas a partir de CD40 y gp39 (CD401 g y CD8 gp39), inhibidores, tal como inhibidores de la translocación nuclear, de la función NF-kappa B, tal como desoxispergualina (DSG), inhibidores de biosíntesis de colesterol tal como inhibidores de HMG CoA reductasa (lovastatina y simvastatina), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tales como ibuprofeno, aspirina, acetaminofeno, leflunomida, desoxispergualina, azatioprina e inhibidores de la ciclooxigenasa tal como rofecoxib y celecoxib, esteroides tales como prednisolona o dexametasona, compuestos de oro, agentes antiproliferativos tales como metotrexato, E_k506 (tacrolimus, Prograf), micofenolato mofetilo, fármacos citotóxicos tales como azatioprina, VP-16, etopósido, fludarabina, cisplatino y ciclofosfamida, inhibidores de α TNF tal como tenidap, anticuerpos anti-TNF o receptor de TNF soluble, y rapamicina (sirolimus o Rapamune) o derivados de los mismos.

Cuando se emplean otros agentes terapéuticos junto con los compuestos de la presente invención, éstos pueden usarse por ejemplo en unas cantidades tales como se indica en el documento Physician Desk Reference (PDR) o tal como se determine de otro modo por un experto en la técnica.

En el tratamiento o la prevención de afecciones que requieren la inhibición de la proteína tirosina quinasa, un nivel de dosificación apropiado será en general de aproximadamente 0,01 a 500 mg por kg de masa corporal del paciente por día, que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. Preferiblemente, el nivel de dosificación será de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg/kg por día; más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser de aproximadamente 0,01 a 250 mg/kg por día, de aproximadamente 0,05 a 100 mg/kg por día, o de aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg por día. Dentro de este intervalo, la dosificación puede ser de 0,05 a 0,5, de 0,5 a 5 o de 5 a 50 mg/kg por día. Para la administración oral, las composiciones se prevén preferiblemente en forma de comprimidos que contienen de 1,0 a

1000 miligramos del ingrediente activo, particularmente 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, y 1000,0 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que va a tratarse. Los compuestos pueden administrarse según un régimen de 1 a 4 veces por día, preferiblemente de una o dos veces por día.

Se entenderá que, no obstante, el nivel de dosis y la frecuencia de dosificación específicos para cualquier paciente particular puede variarse y dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico que se emplea, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, masa corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular, y el huésped que experimenta la terapia.

A fin de que la naturaleza de la presente invención pueda entenderse con más claridad, se describirán a continuación las formas preferidas de la misma con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Materiales y procedimientos:

Síntesis de compuesto

Los compuestos de fórmula general I se preparan en general a partir de dihaloheterociclo.

Cuando Q es un enlace y W es amino, la síntesis puede comenzar con una sustitución aromática nucleófila para generar un producto intermedio de aminoamino-monohalo.

La sustitución aromática nucleófila se realiza típicamente mediante la adición de una amina al heterociclo dihalogenado en un disolvente tal como etanol, isopropanol, terc-butanol, dioxano, THF, DMF, tolueno o xileno. La reacción se realiza típicamente a una temperatura elevada en presencia de un exceso de amina o una base no nucleófila tal como trietilamina o diisopropiletilamina, o una base inorgánica tal como carbonato de potasio o carbonato de sodio.

Como alternativa, el sustituyente amino puede introducirse a través de una reacción de aminación catalizada por metal de transición. Los catalizadores típicos para tales transformaciones incluyen Pd(OAc)₂/P(t-Bu)₃, Pd₂(dba)₃/BINAP y Pd(OAc)₂/BINAP. Estas reacciones se producen típicamente en disolventes tales como tolueno o dioxano, en presencia de bases tales como carbonato de cesio o terc-butóxido de sodio o de potasio a unas temperaturas que varían de temperatura ambiente a reflujo.

Las aminas que se emplean en la primera etapa de la síntesis de estos compuestos se obtienen comercialmente o se preparan usando unos procedimientos que conocen bien los expertos en la técnica.

Cuando Q es un enlace y W es arilo, hetarilo o otros sistemas unidos por carbono similares, la síntesis comienza típicamente con una reacción de reticulación entre el dihaloheterociclo y una pareja de acoplamiento adecuadamente funcionalizada. Las parejas de acoplamientos típicas son ésteres o ácidos borónicos (acoplamiento de Suzuki: véase, por ejemplo, Miyaura y Suzuki 1995), estannanos (acoplamiento de Stille: véase, por ejemplo, Stille 1986), reactivos de Grignard (acoplamiento de Kumada: Kumada, Tamao y Sumitani 1988) o especies de organozinc (acoplamiento de Negishi, Negishi 2002). El acoplamiento de Suzuki es el procedimiento de acoplamiento preferido y se realiza típicamente en un disolvente tal como DME, THF, DMF, etanol, propanol, tolueno, o 1,4-dioxano en presencia de una base tal como carbonato de potasio, hidróxido de litio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio, fluoruro de potasio o fosfato de potasio. La reacción puede realizarse a temperaturas elevadas y el catalizador de paladio que se emplea puede seleccionarse de Pd(PPh₃)₄, Pd(OAc)₂, [PdCl₂(dppf)], Pd₂(dba)₃/P(t-Bu)₃.

Cuando Q es CO, la síntesis comienza con el ácido hetaril-carboxílico requerido que porta un grupo halo. Los derivados de amida del ácido pueden formarse con facilidad por el acoplamiento de una amina con el ácido usando unos reactivos de acoplamiento tal como diciclohexilcarbodiimida, 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbonildiimidazol en disolventes tales como diclorometano, tetrahydrofurano o 1,4-dioxano. Como alternativa, el ácido puede convertirse en el cloruro de ácido respectivo usando cloruro de tionilo, cloruro de oxalilo, bis(triclorometil)-carbonato o cloruro cianúrico, o a las especies de anhídrido mezcladas usando, por ejemplo, cloroformiato de t-butilo, usando unos procedimientos que conocen bien los expertos en la técnica. Puede hacerse que los derivados de anhídrido mixto o cloruro de ácido reaccionen a continuación con la amina deseada, preferiblemente en presencia de una base tal como trietilamina, diisopropiletilamina o equivalente de fase sólida en un disolvente tal como diclorometano, tetrahydrofurano, dioxano o acetato de etilo a temperaturas ambiente o elevadas, para generar la amida. El cloruro de ácido puede reaccionar también con la amina requerida en unas condiciones acuosas, preferiblemente en presencia de una base inorgánica tal como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o carbonato de sodio para generar la amida deseada.

Las tioamidas pueden prepararse a partir de las amidas que se forman anteriormente mediante unos procedimientos que conocen bien los expertos en la técnica y que incluyen la reacción de la amida con reactivo de Lawesson en un disolvente tal como tolueno a una temperatura elevada.

5 La segunda etapa de la síntesis implica una reacción de sustitución aromática nucleófila del producto intermedio de monohalo con un bencimidazol o azabencimidazol. La reacción se realiza típicamente usando una sal del bencimidazol o azabencimidazol en disolventes tales como THF, DMF, DMA, NMP, tolueno, o xileno de temperatura ambiente a reflujo. La sal de bencimidazol o de azabencimidazol se prepara por reacción con un hidruro de metal tal como hidruro de sodio o de potasio o por reacción con carbonato de cesio. Como alternativa, una reacción de acoplamiento catalizada por metal puede usarse para introducir el anillo de bencimidazol o azabencimidazol. Los catalizadores de metal típicos incluyen Pd(OAc)₂/dppf, PdCl₂/dppe, Pd₂(OAc)₂/P(t-Bu)₃, (CuOTf)₂•PhH. La reacción se realiza típicamente usando una base tal como carbonato de cesio, carbonato de rubidio, carbonato de potasio, terc-butóxido de sodio o fosfato de potasio en un disolvente tal como xileno, tolueno, o DMF de temperatura ambiente a reflujo. Pueden emplearse también reactivos auxiliares, tal como agentes de transferencia de fase (por ejemplo, bromuro de cetrimonio) o agentes de formación de complejos de cobre (por ejemplo, fenantrolina) en la reacción.

20 Como alternativa, la secuencia de reacción que se esboza anteriormente puede invertirse comenzando con el acoplamiento del bencimidazol o azabencimidazol al dihaloheterociclo usando los procedimientos que se esbozan anteriormente, seguido de la introducción del segundo sustituyente en el núcleo heterocíclico usando los procedimientos que se esbozan anteriormente.

25 Una ruta alternativa a los compuestos de fórmula general I implica una reacción mediada por cobre entre un bencimidazol o azabencimidazol y un reactivo organometálico (véase, por ejemplo, Finet, 2002). Los ácidos borónicos son reactivos organometálicos preferibles.

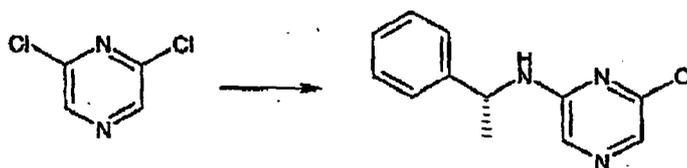
30 El resto de reactivo de tiol (que se representa como parte de los sustituyentes Z) presente en los compuestos de fórmula general I de la invención puede estar ya presente en las funcionalidades que se emplean en los procesos sintéticos que se describen anteriormente, o puede introducirse en la fase final del procedimiento sintético. Por ejemplo, el resto de reactivo de tiol puede introducirse en compuestos que portan un sustituyente hidroxilo o amino libre por acoplamiento con un ácido adecuado. Esto se consigue típicamente usando unos reactivos de acoplamiento tal como dicitohexilcarbodiimida, 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbonildiimidazol en unos disolventes tales como diclorometano, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano. Como alternativa, puede hacerse que unas especies de anhídrido mezcladas adecuadas del ácido, formadas usando, por ejemplo, cloroformiato de t-butilo, usando unos procedimientos que conocen bien los expertos en la técnica, o un derivado cloruro de ácido adecuados, reaccionen con el resto de alcohol o amina en presencia de una base tal como trietilamina, diisopropiletilamina o equivalente de fase sólida en un disolvente tal como diclorometano, tetrahidrofurano, dioxano o acetato de etilo a una temperatura ambiente o elevada, para generar el compuesto deseado.

40 Los expertos en la técnica apreciarán que el orden de las reacciones que se describen para las síntesis anteriores puede cambiarse en ciertas circunstancias y que puede ser necesario derivatizar (es decir, proteger) ciertas funcionalidades en ciertos casos para las reacciones que se describen anteriormente para proceder con un rendimiento y eficacia razonables. Los tipos de funcionalidad de protección se conocen bien por los expertos en la técnica y se describen por ejemplo en Greene (Greene, 1999). Los productos que se forman a partir de las secuencias de reacción que se describen anteriormente pueden derivatizarse adicionalmente usando técnicas que conocen bien los expertos en la técnica.

50 Las síntesis representativas se notifican a continuación.

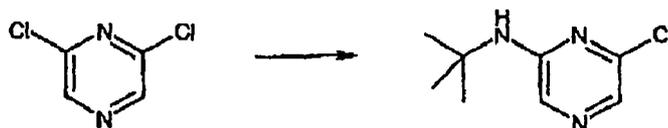
Ejemplo de referencia 1

6-cloro-N-[(1R)-1-feniletil]pirazin-2-amina



55 Una solución de *R*- α -metil-bencilamina (0,57 g, 4,7 mmol) y 2,6-dicloropirazina (0,6388 g, 4,29 mmol) en dioxano (2,5 ml) se calentó a reflujo bajo N₂ durante 48 horas. El disolvente se retiró y el producto se cristalizó a partir de tolueno-hexano (0,82 g, 82 %).

60 RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,58 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H, CH₃), 4,88 (m, 1H, CH), 5,07 (d, 1H, NH), 7,24–7,36 (m, 5H, Ar-H), 7,61 (s, 1H, piraz-H), 7,79 (s, 1H, piraz-H).

Ejemplo de referencia 2*N*-(*terc*-butil)-6-cloropirazin-2-amina

5

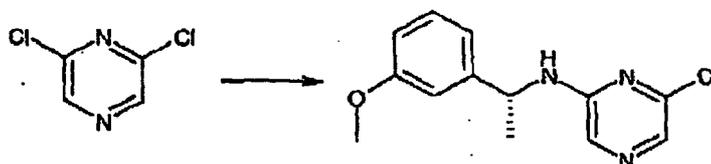
Una mezcla de *terc*-butilamina (14,9 g, 20 mmol), 2,6-dicloropirazina (6,0 g, 40 mmol), base de Hünig (10 ml) y etoxietanol (6 ml) se calentó a 130 °C en un tubo cerrado herméticamente durante 18 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se recogió en CH₂Cl₂ (100 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con H₂O (2 x 20 ml) y salmuera (20 ml) y se secó (Na₂SO₄). La elución por cromatografía con CH₂Cl₂ separó el producto en forma de un sólido de color blanco (5,4 g, 72 %).

10

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H, CH₃), 4,68 (s a, 1H, NH), 7,71 (s, 1H, piraz-H), 7,72 (s, 1H, piraz-H).

Ejemplo de referencia 3

15

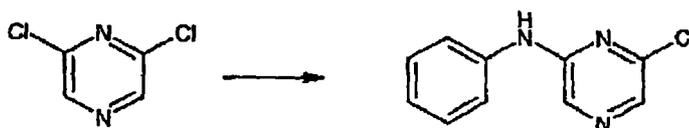
6-cloro-*N*-[(1*R*)-1-(3-metoxifenil)etil]pirazin-2-amina

20

En un procedimiento análogo al ejemplo 1, la reacción de *R*-α-metil-bencilamina (1,0 g, 6,6 mmol) y 2,6-dicloropirazina (0,440 g, 2,95 mmol) proporcionó el producto (517 mg, 67 %).

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,59 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H, CH₃), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 4,87 (m, 1H, CH), 5,47 (s a, 1H, NH), 6,79–7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,66 (s, 1H, piraz-H), 7,79 (s, 1H, piraz-H).

25

Ejemplo de referencia 46-cloro-*N*-fenilpirazin-2-amina

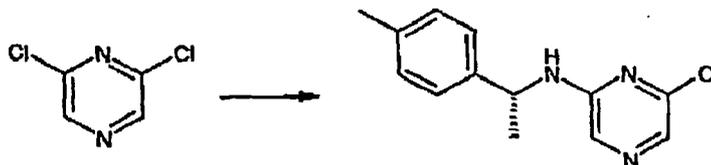
30

Una solución de 2,6-dicloropirazina (1 g, 6,7 mmol) y anilina (1,25 g, 13,4 mmol) en etoxietanol (20 ml) que contiene DIPEA (2,5 ml, 13,4 mmol) se calentó a reflujo durante 3 días bajo N₂. La solución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc (50 ml) y se lavó sucesivamente con H₂O (50 ml), HCl 1 M (2 x 50 ml), H₂O (50 ml) y salmuera (50 ml). Después de secar (Na₂SO₄) el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se cromatógrafió eluyendo con EtOAc-hexano (20:80 – 50:50) para separar el producto puro a partir de las fracciones inferiores (230 mg, 17 %).

35

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 6,62 (s a, 1H, NH), 7,11–7,20 (m, 1H, ArH), 7,38 (s a, 2H, ArH), 7,40 (s, 2H, ArH), 7,98 (s, 1H, piraz-H), 8,11 (s, 1H, piraz-H).

40

Ejemplo de referencia 56-cloro-*N*-[(1*R*)-1-(4-metilfenil)etil]pirazin-2-amina

45

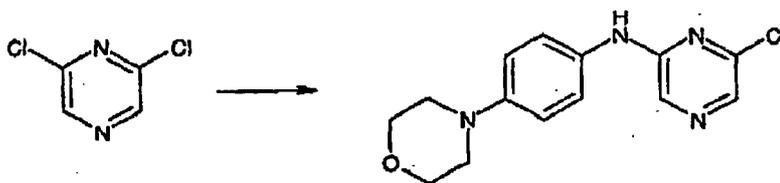
En un procedimiento análogo al ejemplo 1, la reacción de α-(*R*)-4-dimetil-bencilamina (250 mg, 1,85 mmol) y 2,6-dicloropirazina (0,251 g, 1,67 mmol) proporcionó el producto (199,5 mg, 48 %).

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,56 (d, 3H, *J* = 6,9 Hz, CH₃), 2,33 (s, 3H, CH₃), 4,84 (m, 1H, CH), 5,05 (s a, 1H, NH), 7,15

(AA'XX', 2H, Ar-H), 7,24 (AA'XX', 2H, Ar-H), 7,60 (s, 1H, piraz-H), 7,78 (s, 1H, piraz-H).

Ejemplo de referencia 6

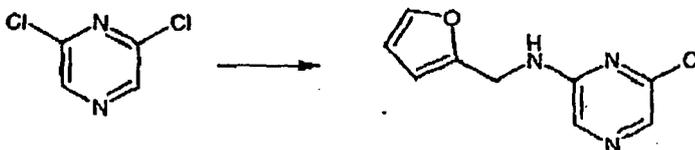
5 6-cloro-N-(4-morfolin-4-ilfenil)-pirazin-2-amina



10 En un procedimiento análogo al ejemplo 1, la reacción de 4-morfolinoanilina (2,15 g, 12,1 mmol) y 2,6-dicloropirazina (0,756 g, 5,03 mmol) proporcionó el producto (0,54 g, 37 %).
RMN de ^1H (CDCl_3) δ 3,25 (s a, 4H, CH_2), 3,99 (s a, 4H, CH_2), 7,05–7,17 (m, 2H, ArH), 7,42–7,54 (m, 2H, ArH), 7,94 (s, 1H, piraz-H), 8,04 (s, 1H, piraz-H), 8,06 (s, 1H, NH).

Ejemplo de referencia 7

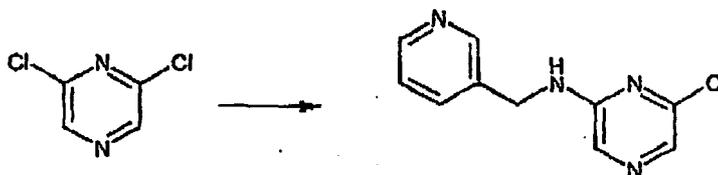
15 6-cloro-N-(2-furilmetil)-pirazin-2-amina



20 En un procedimiento análogo al ejemplo 1, la reacción de furfuralmina y 2,6-dicloropirazina proporcionó el producto (98 %).
RMN de ^1H (CDCl_3) δ 4,57 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H, NCH_2), 5,01 (s, ancho, 1H, NH), 6,30 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H, furanil-H), 6,35–6,33 (m, 2H, furanil-H), 7,81 (s, 1H, piraz-H), 7,84 (s, 1H, piraz-H).

Ejemplo de referencia 8

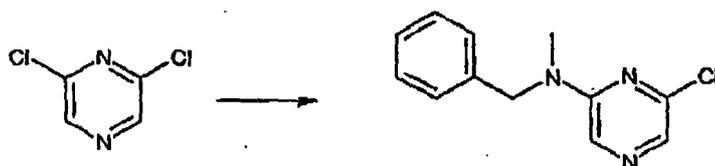
25 6-cloro-N-(piridin-3-ilmetil)-pirazin-2-amina



30 Una mezcla 2,6-dicloropirazina (0,671 mmol) y 3-picolilamina (2,014 mmol) en xileno (25 ml) se calentó a reflujo durante una noche. El residuo obtenido después de la evaporación del disolvente se suspendió entre CH_2Cl_2 (100 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (1 x 100 ml), se secaron (Na_2SO_4) y el disolvente se retiró al vacío.
35 El residuo se purificó a continuación por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla en gradiente de hexano:acetato de etilo para dar el producto deseado (93 %).
RMN de ^1H (CDCl_3) δ 4,61 (d, $J = 5,7$ Hz, 2 H, NCH_2), 5,29 (s, ancho, 1H, NH), 7,27 (m, 1H, pirid.-H), 7,30 (m, 1H, pirid.-H), 7,71 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, pirid.-H), 7,85 (s, 1H, pirid.-H), 8,54 (s, ancho, 1H, piraz.-H), 8,61 (s, ancho, 1H, piraz.-H).

Ejemplo de referencia 9

40 N-bencil-6-cloro-N-metilpirazin-2-amida



45

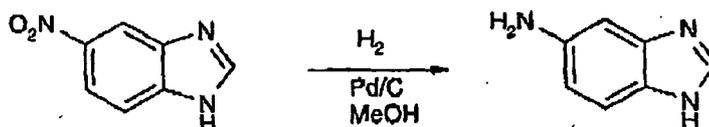
En un procedimiento análogo al ejemplo 1, la reacción de N-metil-bencilamina y 2,6-dicloropirazina proporcionó el producto (70 %).

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 3,11 (s, 3 H, NCH_3), 4,98 (s, 2H, ArCH_2N), 7,24 (d, $J = 6,9$ Hz, 2 H, ArH), 7,37–728 (m, 4H, ArH), 7,81 (s, 1H, piraz.-H), 7,88 (s, 1H, piraz.-H).

5

Ejemplo de referencia 10

1H-bencimidazol-5-amina



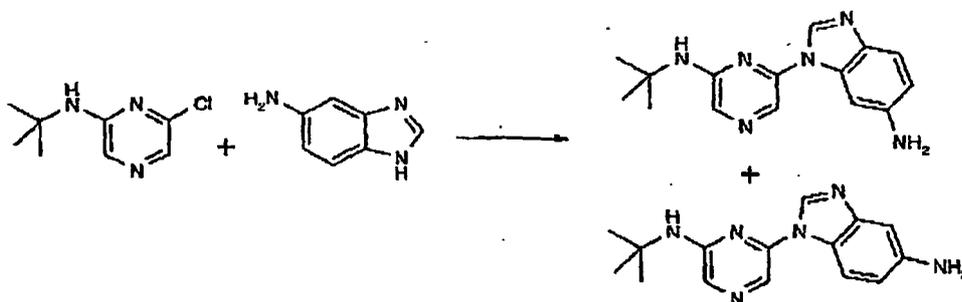
10

Una solución de 5-nitrobenzimidazol (10,0 g, 61,3 mmol) en metanol (250 ml) se hidrogenó en presencia de Pd al 10 %/C (0,40 g) a presión atmosférica durante 20 h. La mezcla se filtró a través de Celite® y el disolvente se retiró a presión reducida para dar el producto puro (8,1 g, 100 %).

15 RMN de ^1H (CD_3OD) δ 6,75 (dd, 1H, $J = 8,4$ y 2,0 Hz, bencimid-H), 6,92 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, bencimid-H), 7,36 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, bencimid-H), 7,92 (s, 1H, bencimid-H).

Ejemplo de referencia 11

20 1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-benzimidazol-5-amina y 1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-benzimidazol-6-amina



25 Una mezcla de 1H-benzimidazol-5-amina (2,93 g, 22 mmol), N-(terc-butil)-6-cloropirazina-2-amina (3,71 g, 20 mmol) y carbonato de cesio (9,12 g, 28 mmol) en DMF (20 ml) se calentó bajo N_2 durante 48 h. Después de la refrigeración a TA la mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se extrajo con CHCl_3 y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se cromatografió usando CH_2Cl_2 -MeOH (98:2 – 93:7) para dar a partir de las fracciones menos polares 1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-benzimidazol-6-amina (1,38 g):

30

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,51 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,80 (s a, 2H, NH_2), 4,84 (s a, 1H, NH), 6,74 (dd, 1H, $J = 8,4$, 2,2 Hz, bencimid-H), 7,21 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, bencimid-H), 7,62 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, bencimid-H), 7,79 (s, 1H, piraz.-H), 8,07 (s, 1H, piraz.-H), 8,17 (s, 1H, bencimid-H).

35 y a partir de las fracciones más polares 1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-benzimidazol-5-amina (1,54 g):

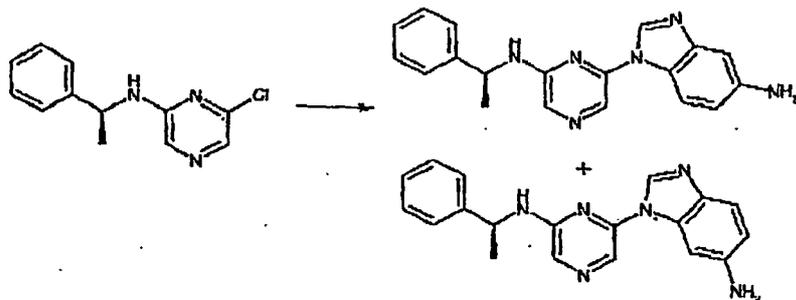
RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1-51 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,48 (s a, 2H, NH_2), 4,86 (s, 1H, NH), 6,79 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,2 Hz, bencimid-H), 7,14 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, bencimid-H), 7,70 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, bencimid-H), 7,78 (s, 1H, piraz.-H), 8,07 (s, 1H, piraz.-H), 8,47 (s, 1H, bencimid-H).

40

Ejemplo de referencia 12

1-[[[(1S)-1-feniletil]amino]pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-5-amina y 1-(6-[[[(1S)-1-feniletil]amino]pirazin-2-il]-1H-bencimidazo-6-amina

5



A una solución agitada de 5-amino-bencimidazol (290 mg, 2,2 mmol) en DMF anhidra (10 ml) bajo N₂ se añadió carbonato de cesio (980 mg). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 60 min. A lo anterior se añadió una solución de 6-cloro-N-[(1S)-1-feniletil]pirazin-2-amina (470 mg) en DMF (5 ml) y la mezcla resultante se calentó a continuación a reflujo durante 48 h. El DMF se retiró a presión reducida y el residuo se diluyó con cloroformo. La capa orgánica se lavó con Na₂CO₃ acuoso, se secó (Na₂SO₄) y el disolvente se retiró a presión reducida para formar el producto en bruto. La cromatografía en columna usando diclorometano-metanol (95:5 - 92:8) como eluyente separó dos fracciones a partir del material de partida sin reaccionar. La fracción de R_f más alta se asignó como el 6-

isómero (276 mg, 42 %).
 RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,64 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃), 2,90 (s a, 2H, NH₂), 5,05 (m, 1H, CH), 5,21 (d, 1H, NH), 6,70 (dd, 1H, J = 8,7, 2,1 Hz, bencimid-H), 6,97 (d, 1H, J = 1,8 Hz, bencimid-H), 7,28-7,43 (m, 5H, Ph-H), 7,58 (d, 1H, J = 8,4 Hz, bencimid-H), 7,84 (s, 1H, piraz-H), 8,08 (s, 1H, piraz-H), 8,21 (s, 1H, bencimid-H).
 m/z (ES) 331 (M⁺+H).

15

La fracción inferior se asignó como el 5-isómero (170 mg, 26 %),

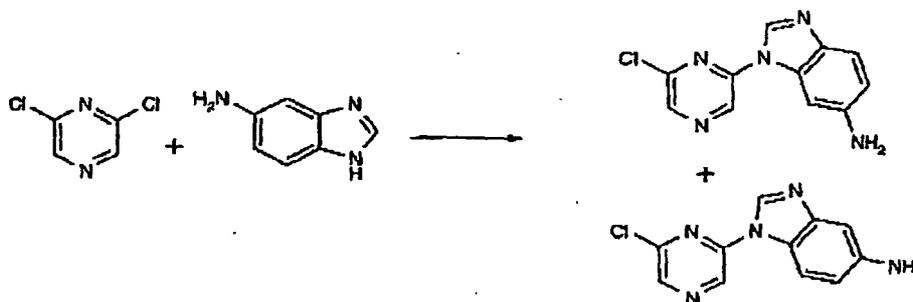
RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,64 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃), 2,85 (s a, 2H, NH₂), 5,01 (m, 1H, CH), 5,19 (d, 1H, NH), 6,70 (dd, 1H, J = 8,7, 2,1 Hz, bencimid-H), 7,11 (d, 1H, J = 1,8 Hz, bencimid-H), 7,29-7,40 (m, 5H, Ph-H), 7,51 (d, 1H, J = 8,7 Hz, bencimid-H), 7,81 (s, 1H, piraz-H), 8,10 (s, 1H, piraz-H), 8,32 (s, 1H, bencimid-H).
 m/z (ES) 331 (M⁺+H).

20

Ejemplo de referencia 13

1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-5-amina y 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina

25



Una mezcla de 1H-bencimidazol-5-amina (0,8 g, 6 mmol), 2,6-dicloropirazina (0,9 g, 6,0 mmol) y carbonato de cesio (2,73 g, 8,4 mmol) en DMF (6 ml) se calentó bajo N₂ durante 6 h. Después de la refrigeración a TA la mezcla se diluyó con diclorometano-metanol (6:1, 30 ml) y se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se cromatografió usando CH₂Cl₂-MeOH (98:2 - 94:6) para dar a partir de las fracciones menos polares 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (398 mg):

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 6,74 (dd, 1H, J = 8,2, 2,2 Hz, bencimid-H), 7,40 (d, 1H, J = 2,2 Hz, bencimid-H), 7,51 (d, 1H, J = 8,2 Hz, bencimid-H), 8,40 (s, 1H, piraz-H), 8,48 (s, 1H, piraz-H), 8,83 (s, 1H, bencimid-H).

35

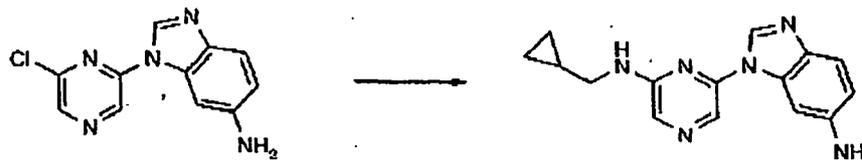
y a partir de las fracciones más polares 1-(6-cloropirazin 2-il)-1H-bencimidazol-5-amina (435 mg)

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 6,79 (dd, 1H, J = 8,8, 2,2 Hz, bencimid-H), 7,03 (d, 1H, J = 2,2 Hz, bencimid-H), 7,86 (d, 1H, J = 9,0 Hz, bencimid-H), 8,44 (s, 1H, piraz-H), 8,52 (s, 1H, piraz-H), 8,82 (s, 1H, bencimid-H).

40

Ejemplo de referencia 14

1-[6-[(ciclopropilmetil)amino]pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-amina



5

Una solución de 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (100 mg, 0,41 mmol) y ciclopropilmetilamina (424 μ l, 4,1 mmol) en etoxietanol (2 ml) que contiene DIPEA (140 μ l) se calentó a reflujo durante una noche bajo N_2 . La solución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc (20 ml) y se lavó sucesivamente con H_2O (20 ml), HCl 1 M (2 x 20 ml), H_2O (20 ml) y salmuera (20 ml). Después de secar (Na_2SO_4) el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se cromatografió eluyendo con diclorometano-metanol (9:1-94:6) para separar el producto puro a partir de las fracciones inferiores (98 mg)

10

RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 0,28-0,36 (m, 2H, CH_2), 0,57-0,66 (m, 2H, CH_2), 1,08-1,22 (m, 1H, CH), 3,27-3,34 (m, 2H, CH_2), 3,79 (s a, 2H, NH_2), 5,02 (m, 1H, NH), 6,74 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,2$ Hz, bencimid-H), 7,33 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, bencimid-H), 7,61 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, bencimid-H), 7,84 (s, 1H, piraz-H), 8,10 (s, 1H, piraz-H), 8,35 (s, 1H, bencimid-H).

15

Ejemplo de referencia 15

20 1-[6-(isopropilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazo-6-amina



25

Una solución de 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (100 mg, 0,41 mmol) e isopropilamina (350 μ l, 4,1 mmol) en etoxietanol (2 ml) que contiene DIPEA (140 μ l) se calentó en un tubo cerrado herméticamente durante una noche bajo N_2 . La solución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc (20 ml) y se lavó sucesivamente con H_2O (20 ml) y salmuera (20 ml). Después de secar (Na_2SO_4) el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se cromatografió eluyendo con diclorometano-metanol (9:1-94:6) para separar el producto puro a partir de las fracciones inferiores (102 mg).

30

RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 1,33 (d, 6H, $J = 6,4$ Hz, CH_3), 3,79 (s a, 2H, NH_2), 4,05-4,21 (m, 1H, CH), 4,72 (m, 1H, $J = 7,2$ Hz, NH), 6,75 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,2$ Hz, bencimid-H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, bencimid-H), 7,61 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, bencimid-H), 7,79 (s, 1H, piraz-H), 8,09 (s, 1H, piraz-H), 8,35 (s, 1H, bencimid-H).

Ejemplo de referencia 16

35

1-[6-(dietilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-amina



40

Una solución de 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (100 mg, 0,41 mmol) y dietilamina (430 μ l, 4,1 mmol) en etoxietanol (2 ml) que contiene DIPEA (140 μ l) se calentó en un tubo cerrado herméticamente durante una noche bajo N_2 . La solución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc (20 ml) y se lavó sucesivamente con H_2O (20 ml) y salmuera (20 ml). Después de secar (Na_2SO_4) el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se cromatografió eluyendo con diclorometano-metanol (9:1 - 94:6) para separar el producto puro a partir de las fracciones inferiores (110 mg).

45

RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 1,28 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz, CH_3), 3,61 (c, 4H, $J = 7,1$ Hz, CH_2), 3,78 (s a, 2H, NH_2), 6,74 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,2$ Hz, bencimid-H), 7,32 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, bencimid-H), 7,61 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, bencimid-H), 7,91 (s, 1H, piraz-H), 8,06 (s, 1H, piraz-H), 8,36 (s, 1H, bencimid-H).

50

Ejemplo de referencia 17

1-(6-piridin-4-ilpirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina



5

En una atmósfera de nitrógeno, una mezcla de 1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (50 mg, 0,20 mmol), ácido 4-piridil-borónico (30 mg, 0,24 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (23 mg, 0,02 mmol) en tolueno-n-propanol (2 ml, 3:1) se trató con una disolución de carbonato de sodio acuoso 2 M (0,14 ml, 0,84 mmol). La mezcla resultante se agitó vigorosamente mientras se calentaba a reflujo durante una noche. Después de la refrigeración, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (10 ml) y se lavó con H₂O (1 x 10 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (10 ml) y las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con Na₂CO₃ 0,5 M y salmuera y después se secaron (Na₂SO₄). La retirada del disolvente al vacío a continuación proporcionó el producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando diclorometano-metanol (98:2 - 91:9) como eluyente para formar el producto (32 mg).

10

15

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 3,88 (s, ancho, 2H, NH₂), 6,80 (dd, 1H, J = 8,6 y 2,0 Hz, bencimid-H), 7,46 (d, 1H, J = 2,0 Hz, bencimid-H), 7,67 (d, 1H, J = 8,6 Hz, bencimid-H), 7,98 - 8,01 (m, 2H, pirid-H), 8,49 (s, 1H, piraz-H), 8,84 - 8,87 (m, 2H, pirid-H), 8,99 (s, 1H, piraz-H), 9,05 (s, 1H, bencimid-H)

Ejemplo 18

N-{1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazo-6-il}prop-2-inamida



25

A una solución agitada de 1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-amina (70 mg, 0,25 mmol) en diclorometano anhidro (2,5 ml) bajo N₂ se añadió trietilamina (86 µl), EDAC.HCl (60 mg), 4-(1-pirrolidino)piridina (4 mg) y ácido propiónico (18,5 µl). La mezcla resultante se agitó a continuación a TA durante una noche y se diluyó a continuación con CH₂Cl₂ (10 ml) y se lavó con H₂O (2 x 10 ml), Na₂CO₃ 0,5 M (10 ml) y se secó (Na₂SO₄). El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando diclorometano-metanol (99:1 - 91:9) como eluyente para separar el producto puro (1,8 mg).

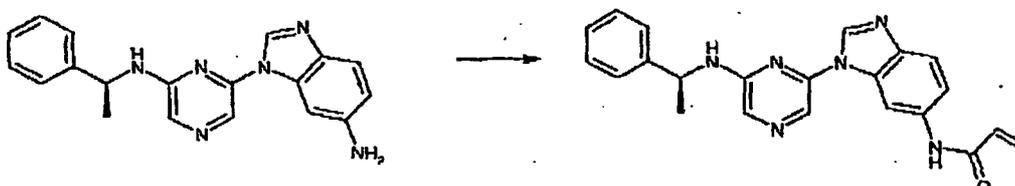
30

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,52 (s, 9H, CH₃), 4,76 (s a, 1H, NH), 5,78 (s a, 1H, CH), 6,75 (dd, 1H, J = 8,4, 2,2 Hz, ArH), 7,22 (d, 1H, J = 2,2 Hz, ArH), 7,63 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar-H), 7,79 (s, 1H, piraz-H), 8,08 (s, 1H, piraz-H), 8,37 (s, 1H, bencimid-H)

35

Ejemplo 19

N-[1-(6-[(1S)-1-feniletilamino]pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida



40

A una solución agitada de 1-(6-[(1S)-1-feniletilamino]pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina (67 mg, 0,2 mmol) en THF anhidro (2 ml) bajo N₂ se añadió trietilamina (67 µl, 0,48 mmol), EDAC.HCl (46 mg, 0,24 mmol), 4-(1-pirrolidino)piridina (cat.) y ácido acrílico (17 mg, 0,24 mmol). La mezcla resultante se agitó a continuación a TA durante una noche y se diluyó a continuación con H₂O (10 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con Na₂CO₃ acuoso saturado, se secaron (Na₂SO₄) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando diclorometano-metanol (98:2 - 94:6) como eluyente para separar el producto puro (25 mg).

45

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,62 (d, 3H, J = 6,8 Hz, CH₃), 5,01-5,13 (m, 1H, CH), 5,38 (d, 1H, J = 6,4 Hz, NH), 5,78 (dd,

1H, $J = 9,8$, 20 Hz, CH), 6,24–6,52 (m, 2H, 2 x CH), 7,29–7,44 (m, 6H, ArH), 7,70–7,74 (m, 2H, Ar–H), 7,82 (s, 1H, piraz–H), 8,11 (s, 1H, piraz–H), 8,33 (s, 1H, bencimid–H), 8,42 (s, 1H, CONH)

Ejemplo 20

5

N–{1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–6–il}acrilamida



10 A una solución agitada de 1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–6–amina (22 mg, 0,08 mmol) en diclorometano anhidro (2 ml) bajo N_2 se añadió trietilamina (33 μ l, 0,24 mmol), EDAC.HCl (22 mg, 0,12 mmol), 4–(1–pirrolidino)–piridina (cat.) y ácido acrílico (8 μ l, 0,12 mmol). La mezcla resultante se agitó a continuación a TA durante 3 días y se diluyó a continuación con H_2O (10 ml), la fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando diclorometano–metanol (98:2 – 93:7) como eluyente para separar el producto puro (10 mg).

15 RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 1,50 (s, 9H, CH_3), 4,89 (s a, 1H, NH), 5,77 (dd, 1H, $J = 10,0$, 2,0 Hz, CH), 6,24–6,51 (m, 2H, 2 x CH), 7,25 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,0 Hz, ArH), 7,76 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar–H), 7,83 (s, 1H, piraz–H), 7,88 (s a, 1H, CONH), 8,13 (s, 1H, piraz–H), 8,52 (s, 1H, bencimid–H), 8,56 (s, 1H, ArH)

20

Ejemplo 21

N–{1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–5–il}acrilamida



25

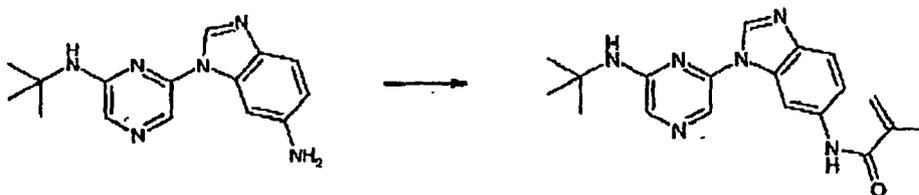
A una solución agitada de 1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–5–amina (20 mg, 0,08 mmol) en diclorometano anhidro (2 ml) bajo N_2 se añadió trietilamina (33 μ l, 0,24 mmol), EDAC.HCl (22 mg, 0,12 mmol), 4–(1–pirrolidino)–piridina (cat.) y ácido acrílico (8 μ l, 0,12 mmol). La mezcla resultante se agitó a continuación a TA durante 3 días y se diluyó a continuación con H_2O (10 ml), la fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando diclorometano–metanol (98:2 – 92:8) como eluyente para separar el producto puro (10 mg).

30 RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 1,52 (s, 9H, CH_3), 4,87 (s a, 1H, NH), 5,77 (dd, 1H, $J = 9,8$, 2,0 Hz, CH), 6,31 (dd, 1H, $J = 16,6$, 9,8 Hz, =CH(H)), 6,48 (dd, 1H, $J = 16,6$, 2,0 Hz, =CH(H)), 7,73–7,81 (m, 2H, piraz–H + ArH), 7,89 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 8,01 (s, 1H, ArH), 8,10 (s, 1H, piraz–H), 8,55 (s, 1H, bencimid–H)

35

Ejemplo 22

40 *N*–{1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–6–il}–2–metilacrilamida



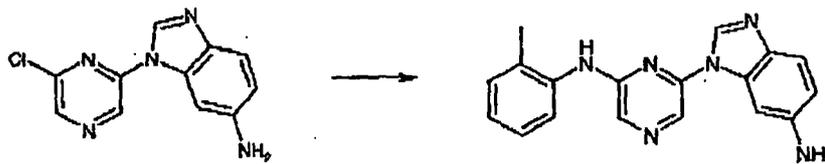
45 Siguiendo un procedimiento idéntico al ejemplo 21, usando no obstante ácido metacrílico en lugar de ácido acrílico, 1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–6–amina (57 mg) dio *N*–{1–[6–(terc–butilamino)–pirazin–2–il]–1H–bencimidazol–6–il}–2–metilacrilamida (54 mg).

RMN de 1H ($CDCl_3 + d_4$ –MeOD) δ 1,43 (s, 9H, CH_3), 2,00 (s a, 3H, CH_3), 5,42 (s a, 1H, =CH(H)), 5,77 (s a, 1H, =CH(H)), 7,32 (dd, 1H, $J = 8,2$, 2,0 Hz, ArH), 7,67 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,74 (s, 1H, piraz–H), 7,99 (s, 1H, piraz–H), 8,38 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, ArH), 8,46 (s, 1H, bencimid–H).

Ejemplo de referencia 23

1-*[6-[(2-metilfenil)amino]pirazin-2-il]-1H-bencimidazo-6-amina*

5



A una solución agitada de la cloropirazina (100 mg, 0,40 mmol) en tolueno (2 ml) se añadió *o*-toluidina (0,1 ml, 0,93 mmol), Pd[P(*t*-Bu)₃]₂ (10 mg) y *t*-butóxido de sodio (58 mg, 0,6 mmol). La solución se calentó a 80 °C durante una noche y tras enfriar a TA se diluyó con EtOAc (20 ml). La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (20 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y se secaron (Na₂SO₄). La retirada del disolvente a presión reducida dio un residuo oleoso que se cromatografió usando CH₂Cl₂-MeOH (98:2 → 94:6) para separar el producto deseado en forma de un aceite de color amarillo pálido (52 mg, 41 %).

10

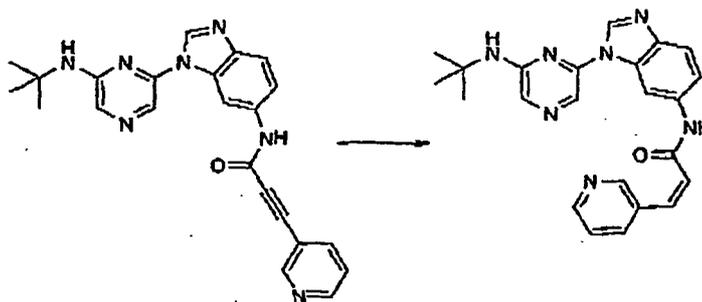
RMN de ¹H (CDCl₃) δ 2,34 (s, 3H, CH₃), 3,70 (s, 2H, NH₂), 6,61 (s, 1H, NH), 6,71 (dd, 1H, *J* = 8,6, 2,2 Hz, ArH), 7,19-7,36 (m, 4H, ArH), 7,53-7,60 (m, 2H, ArH), 7,99 (s, 1H, piraz-H), 8,27 (s, 1H, piraz-H), 8,36 (s, 1H, bencimid-H)

15

Ejemplo 24

(2*Z*)-*N*-{1-[6-(*terc*-butilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}-3-piridin-3-ilacrilamida

20



A una solución agitada del alquino (30 mg, 0,07 mmol) en etanol anhidro (5 ml) se añadió catalizador de Lindlar (3 mg). La mezcla se purgó a continuación con gas hidrógeno y se agitó bajo H₂ a presión atmosférica durante 3 h. El catalizador se retiró por filtración a través de Celite® y el disolvente se retiró al vacío. La cromatografía ultrarrápida usando EtOAc-MeOH (9:1) separó el producto puro como un semisólido pegajoso (13 mg, 43 %).

25

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,50 (s, 9H, C(CH₃)₃), 4,93 (s, 1H, NH), 6,26 (d, 1H, *J* = 12,6 Hz, C=CH), 6,82 (d, 1H, *J* = 12,6 Hz, C=CH), 7,14 (dd, 1H, *J* = 8,7, 2,1 Hz, ArH), 7,25-7,29 (m, 1H, piridina-H), 7,74 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz, ArH), 7,82 (s, 1H, piraz-H), 8,07 (s a, 1H, CONH), 8,09 (s, 1H, piraz-H), 8,13-8,16 (m, 1H, piridina-H), 8,47 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz, piridina-H), 8,50 (s, 1H, bencimid.-H), 8,51-8,53 (m, 1H, piridina-H), 8,63 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz, ArH). *m/z* (EI): 413 (M⁺).

30

Ejemplo de referencia 25

35 *N*-(*terc*-butil)-6-cloropirazina-2-carboxamida



Se añadió cloruro de tionilo (1 ml, 13,7 mmol) a una suspensión del ácido (315 mg, 2 mmol) en tolueno (5 ml). Una gota de DMF se añadió a continuación y después de agitar a TA durante 10 min, la mezcla se calentó a reflujo durante 1 h. La reacción se enfrió a RT y tolueno y el exceso de cloruro de tionilo se retiraron a presión reducida. Se añadió a continuación tolueno (1 ml) al residuo y éste se retiró a presión reducida. El presente proceso se repitió, y a continuación se añadió CH₂Cl₂ (10 ml) y la solución resultante se enfrió hasta 0 °C. A continuación se añadieron *t*-butilamina (0,45 ml, 4,3 mmol) y trietilamina (1,1 ml, 8,0 mmol) y la solución se agitó a TA durante una noche. La solución se diluyó con CH₂Cl₂ (10 ml) y H₂O (10 ml) y la capa orgánica se recogió y se lavó con Na₂CO₃ ac. y después se secó (Na₂SO₄). El disolvente se retiró al vacío y la cromatografía ultrarrápida del residuo usando CH₂Cl₂-MeOH (95:5) separó el producto puro en forma de un aceite (290 mg, 68 %).

40

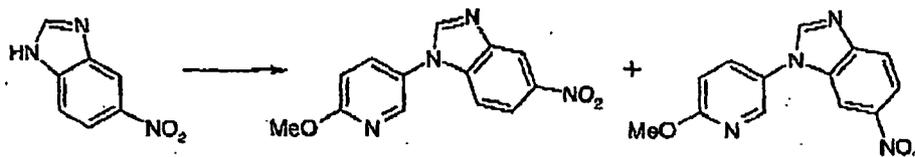
45

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,49 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 7,48 (s a, 1H, NH), 8,72 (s, 1H, piraz-H), 9,27 (s, 1H, piraz-H).
m/z (EI): 413 (M^+).

Ejemplo de referencia 26

5

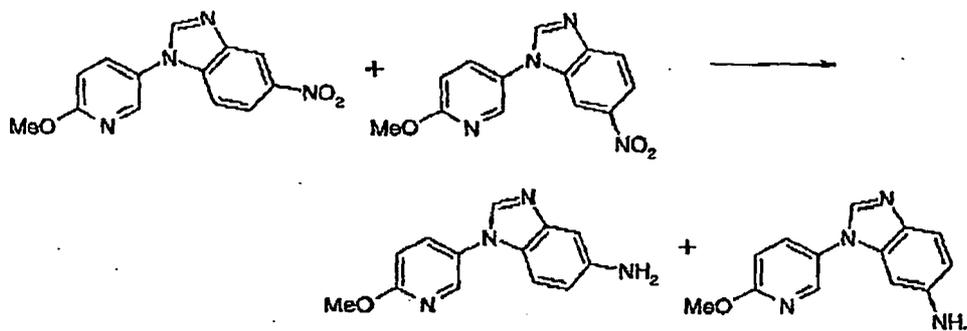
1-(6-metoxipiridin-3-il)-5-nitro-1H-bencimidazol y 1-(6-metoxipiridina-3-il)-6-nitro-1H-bencimidazol



- 10 Una mezcla de 5-nitrobenzimidazol (650 mg, 4 mmol), ácido 2-metoxi-5-piridil-borónico (420 mg, 2,6 mmol), acetato de cobre (II) (1,09 g, 6 mmol) y tamices de 4 Å en polvo se agitó vigorosamente en CH_2Cl_2 (40 ml) que contiene piridina (0,65 ml) se agitó en el aire a lo largo de 3 días. Después, la mezcla se filtró a través de Celite® y el elemento de filtro se lavó con CH_2Cl_2 -MeOH (4:1). El filtrado y los lavados se combinaron, se concentraron al vacío y el residuo se cromatografió usando CH_2Cl_2 -MeOH (100:0 \rightarrow 95:5) para separar el producto (como una mezcla 1:1 de regiómeros) en forma de un sólido de color blanco (272 mg, 37 %).
15 m/z (EI): 270 (M^+).

Ejemplo de referencia 27

- 20 1-(6-metoxipiridin-3-il)-1H-benzimidazol-5-amina y 1-(6-metoxipiridin-3-il)-1H-benzimidazol-6-amina



- 25 La mezcla de regioisómeros derivados del ejemplo 26 (270 mg, 1 mmol) se hidrogenó siguiendo el procedimiento que se esboza en el ejemplo 10. El producto en bruto se cromatografió eluyendo con CH_2Cl_2 -MeOH (98:2 \rightarrow 95:5) para separar el 6-isómero (84 mg) a partir de las fracciones menos polares y el 5-isómero a partir de las fracciones polares. (122 mg).

6-isómero:

- 30 RMN de ^1H (CDCl_3) δ 3,88 (s a, 2H, NH_2), 4,01 (s, 3H, OCH_3), 6,64 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, benzimid.-H), 6,72 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,1$ Hz, benzimid.-H), 6,92 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, benzimid.-H). 7,61-7,68 (m, 2H, pir-H), 7,82 (s, 1H, benzimid.-H), 8,30 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz, pir-H).

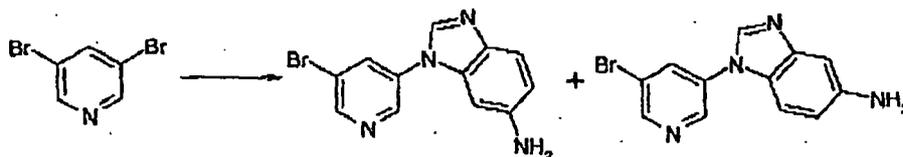
5-isómero:

- 35 RMN de ^1H (CDCl_3) δ 3,11 (s a, 2H, NH_2), 4,01 (s, 3H, OCH_3), 6,75 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz, benzimid.-H), 6,92 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, benzimid.-H), 7,15 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, benzimid.-H), 7,18 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, pir-H), 7,68 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,7$ Hz, pir-H), 7,91 (s, 1H, benzimid.-H), 8,31 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz, pir-H).

40

Ejemplo de referencia 28

1-(5-bromopiridin-3-il)-1H-benzimidazol-6-amina y 1-(5-benzimidazol-3-il)-1H-benzimidazol-5-amina



45

Una solución de 3,5-dibromopiridina (2,37 g, 10 mmol), 5-aminobencimidazol (1,60 g, 12 mmol) y carbonato de cesio (4,9 g, 15 mmol) en DMSO (10 ml) se calentó a 150 °C durante 18 h. Después de la refrigeración a TA la solución se diluyó con CHCl₃ (40 ml) y se filtró a través de Celite® y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se cromatografió (con adsorción previa a sílice) eluyendo con EtOAc-MeOH (100:0 → 95:5) para separar, a partir de las fracciones menos polares, el 6-isómero y, a partir de las fracciones más polares, el 5-isómero.

6-isómeros:

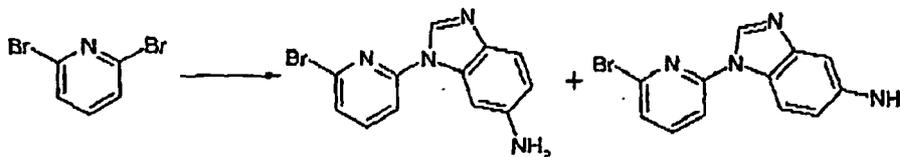
RMN de ¹H (CDCl₃) δ 3,82 (s a, 2H, NH₂), 6,75–6,78 (m, 2H), 7,64 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz, bencimid-H), 7,89 (s, 1H), 8,01 (dd, 1H, *J* = 2,1 Hz, pir-H), 8,75 (s a, 2H).

5-isómero:

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 3,74 (s a, 2H, NH₂), 6,79 (dd, 1H, *J* = 8,7, 2,1 Hz, bencimid-H), 7,15 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz, bencimid-H), 7,31 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz, bencimid-H), 7,99 (s, 1H, bencimid-H), 8,01 (dd, 1H, *J* = 2,1, 2,1 Hz, pir-H), 8,74–8,77 (m, 2H, pir-H).

Ejemplo de referencia 29

1-(6-Z-(6-bromopiridin-2-il)-1H-bencimidazol-6-amina y 1-(6-bromopiridin-2-il)-1H-bencimidazol-5-amina



Usando unos procedimientos idénticos a los que se esbozan en el ejemplo 28, la reacción de 2,6-dibromopiridina con 5-aminobencimidazol y carbonato de cesio en DMSO a 150 °C dio los dos productos regioisoméricos que se separaron por cromatografía.

6-isómero:

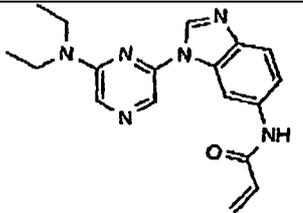
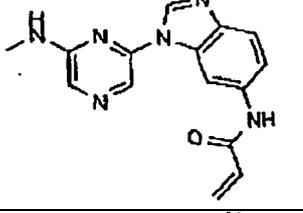
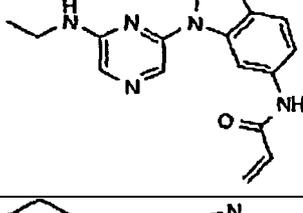
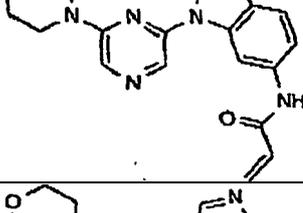
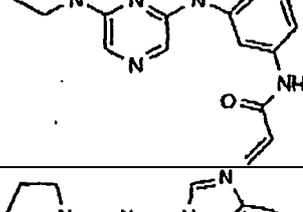
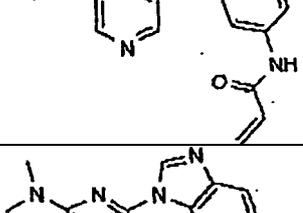
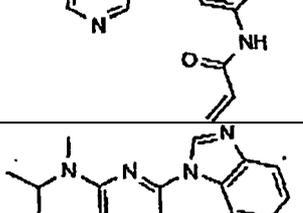
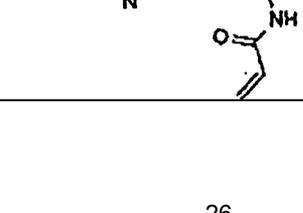
RMN de ¹H (CDCl₃) δ 3,83 (s a, 2H, NH₂), 6,75 (dd, 1H *J* = 8,4, 2,1 Hz, bencimid-H), 7,42–7,47 (m, 3H), 7,60 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz), 7,71 (dd, 1H, *J* = 7,8 Hz), 8,33 (s, 1H).

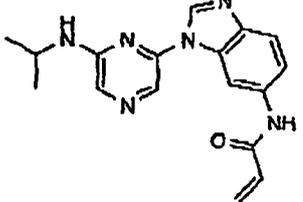
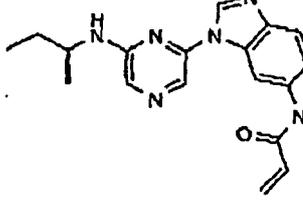
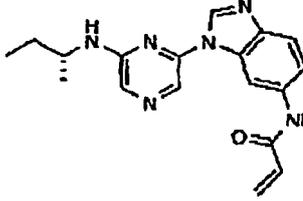
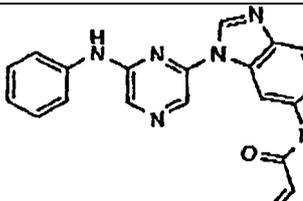
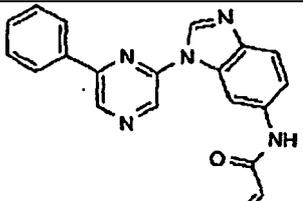
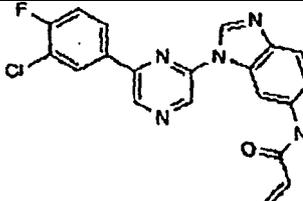
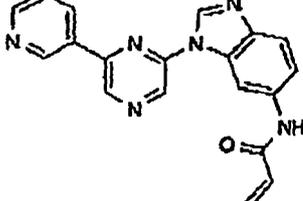
5-isómero:

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 6,81 (dd, 1H, *J* = 8,7, 2,1 Hz, bencimid-H), 7,12 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, bencimid-H), 7,40–7,48 (m, 2H), 7,70 (dd, 1H, *J* = 7,8, 7,8 Hz, pir-H), 7,89 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz, bencimid-H), 8,46 (s, 1H).

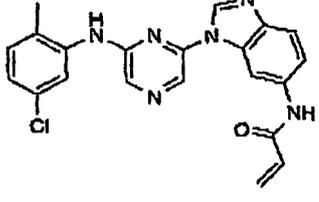
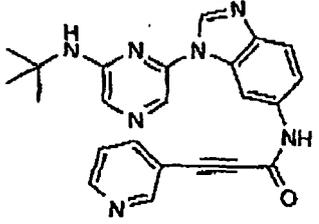
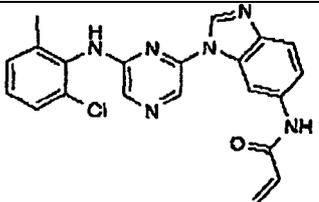
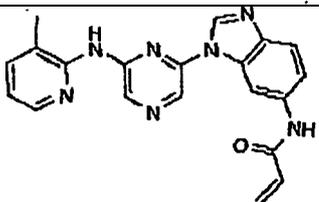
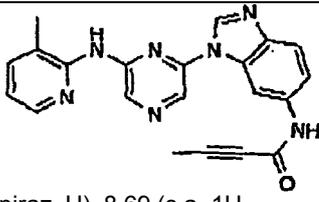
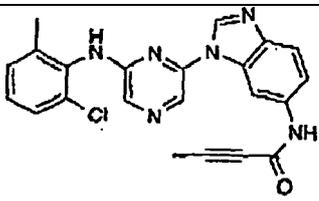
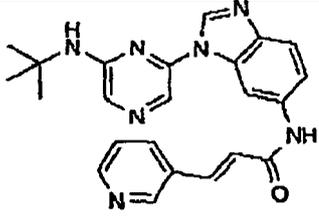
Los siguientes compuestos se prepararon usando unos procedimientos análogos a los que se describen anteriormente:

Compuesto	Estructura	Datos
N-[1-(6-cloropirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ¹ H (CDCl ₃) δ 5,82 (dd, 1H, <i>J</i> = 9,8, 1,8 Hz, =CH), 6,24–6,54 (m, 2H, =CH ₂), 7,33 (dd, 1H, <i>J</i> = 8–8, 1,8 Hz, ArH), 7,60 (s a, 1H, CONH), 7,80 (d, 1H, <i>J</i> = 8,4 Hz, ArH), 8,58 (s, 2H, piraz-H), 8,73 (s a, 1H, ArH), 8,94 (s a, 1H, ArH).
N-[1-[6-(4-metilpiperazin-1-il)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ¹ H (CDCl ₃) δ 2,34 (s, 3H, NCH ₃), 2,55 (t, 4H, <i>J</i> = 5,1 Hz, CH ₂), 3,74 (t, 4H, <i>J</i> = 5,1 Hz, CH ₂), 5,72 (dd, 1H, <i>J</i> = 9,0, 2,6 Hz, CH), 6,25–6,48 (m, 2H, =CH ₂), 7,14 (dd, 1H, <i>J</i> = 8,4, 2,2 Hz, ArH), 7,68 (d, 1H, <i>J</i> = 8,6 Hz, ArH), 8,04 (s, 1H, piraz-H), 8,13 (s, 1H, piraz-H), 8,38 (s a, 1H, CONH), 8,46 (s, 1H, ArH), 8,88 (s a, 1H, ArH).

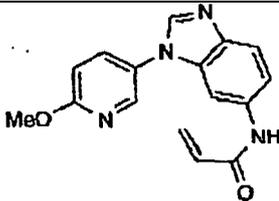
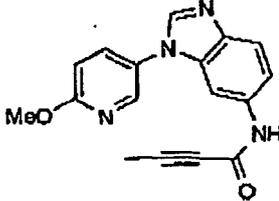
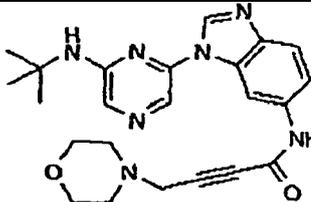
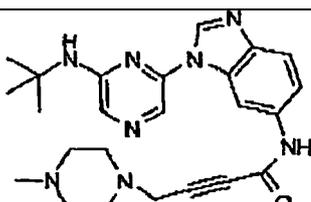
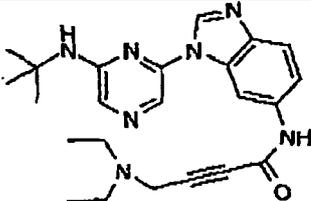
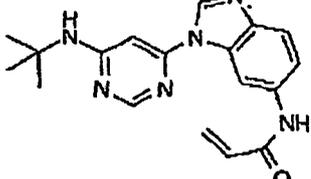
Compuesto	Estructura	Datos
N-{1-[6-(dietilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,24 (d, 6H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 3,60 (c, 4H, $J = 7,1$ Hz, CH_2), 5,72 (dd, 1 H, $J = 9,0, 2,7$ Hz, =CH), 6,25–6,49 (m, 2H, = CH_2), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,9, 2,0$ Hz, ArH), 7,71 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, ArH), 7,91 (s, 1H, piraz-H), 8,07 (s, 1H, piraz-H), 8,33 (s a, 1H, CONH), 8,49 (s, 1H, ArH), 8,76 (s a, 1H, ArH).
N-{1-[6-(metilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 3,11 (d, 3H, $J = 5,0$ Hz, CH_3), 4,9 (s a, 1H, NH), 5,78 (dd, 1H, $J = 9,8, 2,2$ Hz, =CH), 6,23–6,51 (m, 2H, = CH_2), 7,15 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,2$ Hz, ArH), 7,63 (s a, 1H, CONH), 7,76 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, ArH), 7,86 (s, 1H, piraz-H), 8,13 (s, 1H, piraz-H), 8,33 (s, 1H, ArH), δ .90 (s, 1H, ArH).
N-{1-[6-(etilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{d}_4\text{-MeOD}$) δ 1,25 (t, 3H, $J = 7,3$ Hz, CH_3), 3,42 (q, 2H, $J = 7,3$ Hz, CH_2), 5,68 (dd, 1H, $J = 7,8, 4,6$ Hz, =CH), 6,23–6,42 (m, 2H, = CH_2), 7,24 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,2$ Hz, ArH), 7,63 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,73 (s, 1H, piraz-H), 7,97 (s, 1H, piraz-H), 8,44 (s, 1H, ArH), 8,73 (s a, 1H, ArH).
N-{1-[6-(piperidin-1-il)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		m/z (EI) 348 (M^+)
N-{1-[6-(morfolin-4-il)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		m/z (EI) 350 (M^+)
N-{1-[6-(pirrolidin-1-il)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		m/z (EI) 334 (M^+)
N-{1-[6-(dimetilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		m/z (EI) 308 (M^+)
N-(1-(6-[isopropil(metil)amino]pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il)-acrilamida		m/z (EI) 336 (M^+)

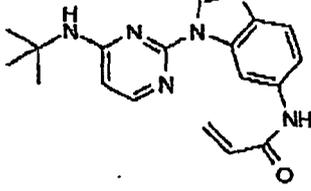
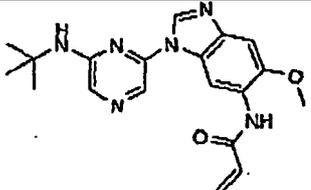
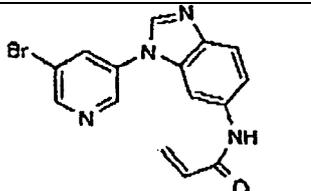
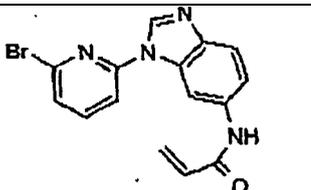
Compuesto	Estructura	Datos
N-{1-[6-(isopropilamino)pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,32 (d, 6H, $J = 6,2$ Hz, CH_3), 4,13–4,29 (m, 1H, CH), 4,75 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, NH), 5,78 (dd, 1H, $J = 9,8$, 2,0 Hz, =CH), 6,22–6,51 (m, 2H, = CH_2), 7,19 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,2 Hz, ArH), 7,62 (s a, 1H, CONH), 7,76 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,82 (s, 1H, piraz-H), 8,13 (s, 1H, piraz-H), 8,50 (s, 1H, ArH), 8,74 (s a, 1H, ArH).
N-{1-(6-[(1.5)-1-metilpropil]-amino)pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,99 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,27 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, CH_3), 1,53–1,73 (m, 2H, CH_2), 3,95–4,09 (m, 1H, CH), 4,79 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, NH), 5,76 (dd, 1H, $J = 9,6$, 2,0 Hz, =CH), 6,23–6,50 (m, 2H, = CH_2), 7,21 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,2 Hz, ArH), 7,74 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,82 (s, 1H, piraz-H), 7,84 (s a, 1H, CONH), 8,11 (s, 1H, piraz-H), 8,49 (s, 1H, ArH), 8,73 (br s, 1H, ArH).
N-[1-(6-[(1R)-1-metilpropil]-amino)pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,99 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,27 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, CH_3), 1,53–1,73 (m, 2H, CH_2), 3,95–4,08 (m, 1H, CH), 4,81 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, NH), 5,75 (dd, 1H, $J = 9,6$, 2,0 Hz =CH), 6,23–6,50 (m, 2H, = CH_2), 7,22 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,2 Hz, ArH), 7,73 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,81 (s, 1H, piraz-H), 7,98 (s a, 1H, CONH), 8,10 (s, 1H, piraz-H), 8,49 (s, 1H, ArH), 8,73 (s a, 1H, ArH).
N-{1-(6-anilino)pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3 + d_4\text{-MeOD}$) δ 5,9 (dd, 1H, $J = 9,0$, 3,0 Hz, =CH), 6,40 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, =CH(H)), 6,43 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, =CH(H)), 7,11–7,18 (m, 1H, ArH), 7,30–7,44 (m, 3H, ArH), 7,52–7,56 (m, 2H, ArH), 7,75 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 8,20 (s, 1H, piraz-H), 8,27 (s, 1H, piraz-H), 8,56 (s, 1H, ArH), 8,79 (s a, 1H, ArH).
N-[1-(6-fenil)pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 5,70 (dd, 1H, $J = 8,6$, 2,2 Hz, =CH), 6,22–6,46 (m, 2H, = CH_2), 7,29 (dd, 1H, $J = 8,6$, 1,4 Hz, ArH), 7,47–7,57 (m, 3H, ArH), 7,68 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 8,12–8,16 (m, 2H, ArH), 8,65 (s, 1H, piraz-H), 8,89 (s, 1H, piraz-H), 8,91 (s, 1H, ArH), 8,97 (s, 1H, ArH).
N-{1-[6-(3-cloro-4-fluorofenil)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]-acrilamida		m/z (ET) 393, 395 (~ 3:1) (M^+)
N-[1-(6-piridin-3-il)pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		m/z (ET) 342 (M^+)

Compuesto	Estructura	Datos
N-[1-(6-piridin-3-ilpirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		m/z (EI) 347 (M^+)
N-[1-[6-(1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		m/z (EI) 331 (M^+)
N-[1-[6-(3,4,5-trimetoxifenil)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		m/z (EI) 431 (M^+)
1-metil-N-{1-[6-(t-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}-1,2,5,6-tetrahidropiridina-3-carboxamida		m/z (EI) 405 (M^+)
N-[1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]but-2-enamida		m/z (ET) 350 (M^+)
N-[1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]but-2-inamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,50 (s, 9H, C $(\text{CH}_3)_3$), 1,98 (s, 3H, CH_3), 4,93 (s, 1H, NH), 7,20 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,0$ Hz, ArH), 7,76 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 7,83 (s, 1H, piraz-H), 7,95 (s a, 1H, CONH), 8,08 (s, 1H, piraz-H), 8,44 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, ArH), 8,49 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 348 (M^+).
N-[1-[6-[(2-metilfenil)amino]-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]-acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ($v/v = 19/1$) δ 2-3,5 (s, 3H, CH_3), 5,75-5,83 (m, 1H, C=CH), 6,39-6,49 (m, 2H, 2 x C=CH), 7,19-7,34 (m, 3H, 3ArH), 7,41 (dd, 1H, $J = 7,5, 1,4$ Hz, ArH), 7,71 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,92 (s, 1H, piraz-H), 8,25 (s, 1H, piraz-H), 8,57 (s, 1H, bencimid-H), 8,76 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, ArH). m/z (EI): 370 (M^+).

Compuesto	Estructura	Datos
N-(1-{6-[(5-cloro-2-metilfenil)-amino]pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il)acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 19/1) δ 2,32 (s, 3H, CH_3), 5,77–5,81 (m, 1H, $\text{C}=\text{CH}$), 6,33–6,49 (m, 2H, 2 x $\text{C}=\text{CH}$), 7,15 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$ Hz, ArH), 7,24 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, ArH), 7,39 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz, ArH), 7,62 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, ArH), 7,74 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,98 (s, 1H, piraz-H), 8,31 (s, 1H, piraz-H), 8,53 (s, 1H, bencimid-H), 8,77 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, ArH). m/z (EI): 404, 406 (ambos M^+).
N-(1-{6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il}-3-piridin-3-ilprop-2-inamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 19/1) δ 1,50 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 7,34–7,42 (m, 2H, ArH + piridina-H), 7,76 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,82 (s, 1H, piraz-H), 7,90–7,94 (m, 1H, piridina-H), 8,04 (s, 1H, piraz-H), 8,48 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, ArH), 8,49 (s, 1H, bencimid-H), 8,52–8,61 (m, 1H, piridina-H), 8,76–8,77 (m, 1H, piridina-H). m/z (EI): 411 (M^+).
N-(1-{6-[(2-cloro-6-metilfenil)-amino]pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il)acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 19/1) δ 2,33 (s, 3H, CH_3), 5,75–5,79 (m, 1H, $\text{C}=\text{CH}$), 6,32–6,48 (m, 2H, 2 x $\text{C}=\text{CH}$), 7,18–7,26 (m, 2H, 2ArH), 7,36–7,39 (m, 2H, 2ArH), 7,63 (s, 1H, piraz-H), 7,69 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 8,27 (s, 1H, piraz-H), 8,49 (s, 1H, bencimid-H), 8,69 (s a, 1H, ArH). m/z (EI): 404, 406 (ambos M^+).
N-(1-{6-[(3-metilpiridin-2-il)-amino]pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il)acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 19/1) δ 2,44 (s, 3H, CH_3), 5,75–5,79 (m, 1H, $\text{C}=\text{CH}$), 6,36–6,48 (m, 2H, 2 x $\text{C}=\text{CH}$), 6,97–7,01 (m, 1H, piridina-H), 7,37 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,1$ Hz, ArH), 7,39–7,57 (m, 1H, piridina-H), 7,73 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, ArH), 8,22–8,24 (m, 1H, piridina-H), 8,47 (s, 1H, piraz-H), 8,58 (s, 1H, piraz-H), 8,90 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, ArH), 9,44 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 371 (M^+).
N-(1-{6-[(3-metilpiridin-2-il)-amino]pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il)but-2-inamida	 piraz-H), 8,69 (s a, 1H,	RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 4/1) δ 2,03 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,42 (s, 3H, CH_3), 6,96–7,00 (m, 1H, piridina-H), 7,34 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, ArH), 7,54–7,56 (m, 1H, piridina-H), -7,69–7,72 (m, 1H, piridina-H), 8,22–8,24 (m, 1H, piridina-H), 8,45 (s, 1H, piraz-H), 8,58 (s, 1H, piraz-H), 8,69 (s a, 1H, ArH), 9,45 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 383 (M^+).
N-(1-{6-[(2-cloro-6-metilfenil)-amino]pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il)but-2-inamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 2,08 (s, 3H, CH_3), 2,34 (s, 3H, CH_3), 6,57 (s, 1H, NH), 7,30–7,32 (m, 2H, 2ArH), 7,42–7,52 (m, 3H, 3ArH), 7,75 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,84 (s, 1H, piraz-H), 8,06 (s a, 1H, CONH), 8,35 (s, 1H, piraz-H), 8,48 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 416, 418 (ambos M^+).
(2E)-N-[1-{6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il}-1H-bencimidazol-6-il}-3-piridin-3-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,51 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 4,81 (s, 1H, NH), 6,66 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 7,24–7,33 (m, 2H, ArH + piridina-H), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 7,78–7,81 (m, 3H, 2ArH + CONH), 7,83 (s, 1H, piraz-H), 8,15 (s, 1H, piraz-H), 8,52 (s, 1H, bencimid-H), 8,58–8,60 (m, 2H, 2 x piridina-H), 8,79 (s a, 1H, ArH). m/z (EI): 413 (M^+).

Compuesto	Estructura	Datos
N-(1-[6-[(2,3-diclorofenil)amino]-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il)-acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 9/1): 5,75–5,79 (m, 1H, C=CH), 6,34–6,46 (m, 2H, 2 x C=CH), 7,24–7,26 (m, 2H, 2ArH), 7,28–7,38 (m, 1H, ArH), 7,72 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,96–7,99 (m, 1H, ArH), 8,20 (s, 1H, piraz-H), 8,40 (s, 1H, piraz-H), 8,52 (s, 1H, bencimid-H), 8,72 (s a, 1H, ArH). m/z (EI): 424, 426, 428 (todos M^+).
N-(1-[6-[(2,5-diclorofenil)amino]-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il)-acrilamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 9/1): 5,75–5,79 (m, 1H, C=CH), 6,40–6,48 (m, 2H, 2 x C=CH), 7,06 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,4$ Hz, ArH), 7,39–7,45 (m, 2H, 2ArH), 7,73 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 8,21 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, ArH), 8,30 (s, 1H, piraz-H), 8,44 (s, 1H, piraz-H), 8,60 (s, 1H, bencimid-H), 8,71 (s a, 1H, ArH). m/z (EI): 424, 426, 428 (todos M^+).
N-(1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il)-3-piridin-3-ilprop-2-inamida		RMN de ^1H $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 19/1): 2,33 (s, 3H, CH_3), 7,24–7,29 (m, 2H, 2ArH), 7,36–7,42 (m, 2H, ArH + piridina-H), 7,51 (dd, 1H, $J = 8,7, 7,8$ Hz, ArH), 7,73–7,75 (m, 2H, ArH + piraz-H), 7,91–7,95 (m, 1H, piridina-H), 8,29 (s, 1H, piraz-H), 8,43 (s a, 1H, ArH), 8,50 (s, 1H, bencimid-H), 8,62–8,64 (m, 1H, piridina-H), 8,80 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, piridina-H). m/z (EI): 479, 481 (ambos M^+).
6-[6-(acriloilamino)-1H-bencimidazol-1-il]-N-(terc-butil)-pirazina-2-carboxamida		RMN de ^1H CDCl_3 δ 1,56 (s, 9H, C (CH_3) $_3$), 5,76 (dd, 1H, $J = 9,5, 1,7$ Hz, C=CH), 6,31 (dd, 1H, $J = 16,9, 9,5$ Hz, C=CH), 6,48 (dd, 1H, $J = 16,9, 1,8$ Hz, C=CH), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,9, 9,9$ Hz, ArH), 7,62 (s a, 1H, CONH). 7,76–7,80 (m, 2H, 2ArH), 8,51 (s, 1H, piraz-H), 9,10 (s a, 2H, piraz-H + CONH), 9,38 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 364 (M^+).
6-[6-(acriloilamino)-1H-bencimidazol-1-il]-N-isopropilpirazina-2-carboxamida		$\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (v/v = 9/1): 1,42 (d, 6H, 2 x CH_3), 4,42 (m, 1H, CH), 5,75–5,81 (m, 1H, C=CH), 6,35–6,52 (m, 2H, 2 x C=CH), 7,22 (dd, 1H, $J = 9,0, 2,4$ Hz, ArH), 7,75 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 8,77 (s, 1H, piraz-H), 9–2,5 (s, 1H, piraz-H), 9,34 (s, 1H, bencimid-H), 9,39 (s a, 1H, ArH). m/z (EI): 350 (M^+).
6-[6-(acriloilamino)-1H-bencimidazol-1-il]-N,N-dimetilpirazina-2-carboxamida		RMN de ^1H CDCl_3 δ 3,23 (s, 6H, N (CH_3) $_2$), 5,79 (dd, 1H, $J = 9,5, 2,3$ Hz, C=CH), 6,33 (dd, 1H, $J = 16,9, 9,5$ Hz, C=CH), 6,47 (dd, 1H, $J = 16,9, 2,1$ Hz, C=CH), 7,22 (dd, 1H, $J = 8,6, 2,2$ Hz, ArH), 7,72 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, ArH), 8,05 (s a, 1H, CONH), 8,52 (s, 1H, piraz-H), 8,75 (s, 1H, CONH), 8,87 (s, 1H, piraz-H), 9,02 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 336 (M^+).
6-[6-(but-2-inoilamino)-1H-bencimidazol-1-il]-N,N-dimetilpirazina-2-carboxamida		RMN de ^1H CDCl_3 δ 2,04 (3, 3H, CH_3), 3,24, 3,26 (cada s, 3H, NCH_3), 7,16 (dd, 1H, $J = 8,8, 1,8$ Hz, ArH), 7,75 (s a, 1 H, CONH), 7,80 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 8,54 (s, 1H, piraz-H), 8,74 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, ArH), 8,91 (s, 1H, piraz-H), 9,03 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 348 (M^+).

Compuesto	Estructura	Datos
N-[1-(6-metoxipiridin-3-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 4,01 (s, 3H, OCH_3), 5,74 (dd, 1H, $J = 9,9, 1,8$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 6,29 (dd, 1H, $J = 16,8, 9,9$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 6,43 (dd, 1H, $J = 16,8, 1,8$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 6,91 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, pir-H), 7,11 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,1$ Hz, bencimid-H), 7,70 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,7$ Hz, pir-H), 7,74 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, bencimid-H), 7,99 (s, 1H, bencimid-H), 8,07 (s a, 1H, CONH), 8,26 (s a, 1H, bencimid-H), 8,30 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, pir-H). m/z (EI): 294 (M^+).
N-[1-(6-metoxipiridin-3-il)-1H-bencimidazol-6-il]but-2-inamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,96 (s, 3H, CH_3), 4,01 (s, 3H, OCH_3), 6,92 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, pir-H), 7,12 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz, bencimid-H), 7,69 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,7$ Hz, pir-H), 7,76 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, bencimid-H), 7,99 (s, 1H, bencimid-H), 8,04-8,05 (m, 2H, CONH + bencimid-H), 8,30 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, pir-H). m/z (EI): 306 (M^+).
N-{1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}-4-morfolin-4-ilbut-2-inamida		RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, v/v = 9/1) δ 1,51 (s, 9H, t-Bu), 2,65 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz, 2 x NCH_2), 3,45 (s, 2H, NCH_2), 3,77 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz, 2 x OCH_2), 7,33 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz, bencimid-H), 7,75 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, bencimid-H), 7,82 (s, 1H, piraz-H), 8,05 (s, 1H, piraz-H), 8,45 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, bencimid-H), 8,52 (s, 1H, bencimid-H). m/z 4,33 (M^+).
N-{1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il}-4-(4-metilpiperazin-1-il)-but-2-inamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,52 (s, 9H, t-Bu), 2-51 (t, 4H, $J = 5,1$ Hz, 2 x NCH_2), 2,78 (s, 3H, NCH_3), 3,26 (t, 4H, $J = 5,1$ Hz, 2 x NCH_2), 3,50 (s, 2H, NCH_2), 4,86 (s, 1H, NH), 7,24 (dd, 1H, $J = 8,7, 7,8$ Hz, bencimid-H), 7,78 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, bencimid-H), 7,84 (s, 1H, piraz-H), 8,11 (s, 1H, piraz-H), 8,17 (s a, 1H, CONH), 8,46 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, bencimid-H), 8,50 (s, 1H, bencimid-H). m/z 446 (M^+).
N-[1-(6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]-4-(dietilamino)but-2-inamida.		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,11 (t, 6H, $J = 7,2$ Hz, 2 x CH_3), 1,53 (s, 9H, t-Bu), 2,62 (t, 4H, $J = 7,2$ Hz, 2 x NCH_2), 3,59 (s, 2H, NCH_2), 4,84 (s, 1H, NH), 7,21 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz, bencimid-H), 7,76 (s a, 1H CONH), 7,79 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, bencimid-H), 7,85 (s, 1H, piraz-H), 8,12 (s, 1H, piraz-H), 8,45 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, bencimid-H), 8,51 (s, 1H, bencimid-H). m/z 419 (M^+).
N-{1-[6-(terc-butilamino)-pirimidin-4-il]-1H-bencimidazol-6-il}acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3): δ 8,76 (a, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,75 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,73 (a, 1H, amida NH), 7,15 (dd, $J = 8-6,2,0$ Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,47 (dd, $J = 16,9, 9,7$ Hz, 1H), 6,30 (dd, $J = 16,9, 9,6$ Hz, 1H), 5,80 (dd, $J = 9,6, 6,7$ Hz, 1H), 5,41 (a, 1H, NH), 1,52 (s, 9H) ppm. m/z 336,3

Compuesto	Estructura	Datos
N-[1-[4-(terc-butilamino)-pirimidin-2-il]-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3): δ 8,93 (s, 2H), 8,11 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,78 (a, 1H, amida NH), 7,74 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,51 (m a, 1H), 6,46 (dd, $J = 16,9, 9,6$ Hz, 1H), 6,32 (dd, $J = 16,9, 90,0$ Hz, 1H), 6,20 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 5,75 (dd, $J = 10,0, 0,6$ Hz, 1H), 5,09 (a, 1H, NH), 1,51 (s, 9H) ppm. m/z 336,1 LC-MS: RT = 7,6 min
N-[1-[6-(terc-butilamino)-pirazin-2-il]-5-metoxi-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,53 (s, 9H; C $(\text{CH}_3)_3$), 4,00 (s, 3H, OCH_3), 4,78 (s, 1H, NH), 5,78 (dd, 1H, $J = 9,6, 1,8$ Hz, C=CH), 6,33 (dd, 1H, $J = 16,8, 9,6$ Hz, C=CH), 6,44 (dd, 1H, $J = 17,0, 1,8$ Hz, C=CH), 7,35 (s, 1H, ArH), 7,83 (s, 1H, piraz-H), 8,09 (s a, 1H, CONH), 8,19 (s, 1H, piraz-H), 8,49 (s, 1H, ArH), 9,12 (s, 1H, bencimid-H). m/z (EI): 366 (M^+).
N-[1-(5-bromopiridin-3-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		RMN de ^1H (CDCl_3) δ 5,79 (d, 1H, $J = 10,2$ Hz, C=CH), 6,27 (dd, 1H, $J = 16,8, 80,2$ Hz, C=CH), 6,45 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, C=CH), 7,16 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,1$ Hz, bencimid-H), 7,52 (s a, 1H, CONH), 7,80 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, bencimid-H), 8,03-8,05 (m, 2H), 8,30 (s a, 1H, bencimid-H), 8,77-8,80 (m, 2H, pir-H). m/z 342, 344 (M^+)
N-[1-(6-bromopiridin-2-il)-1H-bencimidazol-6-il]acrilamida		m/z 342, 344 (M^+)

Selección

Dilución de compuestos

- 5 Para fines de selección, los compuestos se diluyeron en placas de 96 pocillos a una concentración de 20 μM . Las placas se calentaron a 37 $^\circ\text{C}$ durante 30 minutos antes del ensayo.

Producción del dominio de Tirosina Quinasa JAK

- 10 *Los dominios de quinasa JAK se produjeron en la siguiente forma:*

JAK1

- 15 El dominio de quinasa de JAK1 humana se amplificó a partir de ARNm de U937 usando la reacción de cadena de polimerasa con los siguientes cebadores:



- 20 Los productos de PCR de JAK1 se clonaron en el vector de expresión de HTb pFastBac (Gibco) a través de los sitios Xho I y Kpn I. El plásmido de JAK1 se transformó a continuación en células de DH10Bac competentes (Gibco), y el baculovirus recombinante producido se preparó para su transfección en unas células de insecto de Sf9.

JACK2

- El dominio de quinasa de JAK2 humana se amplificó a partir de ARNm de U937 usando la reacción de cadena de polimerasa con los siguientes cebadores:

- 30 $\begin{array}{ll} \text{SALi-jk2} & 5\text{'-ACG CGT CGA CGG TGC CTT TGA AGA CCG GGA T-3'} \\ \text{jk2-NOTI} & 5\text{'-ATA GTT TAG CGG CCG CTC AGA ATG AAG GTC ATT T-3'} \end{array}$

Los productos de PCR de JAK2 se clonaron en el vector de expresión de HTc pFastBac (Gibco) a través de los sitios Sal I y Not I. El plásmido de JAK2 se transformó a continuación en células de DH10Bac competentes (Gibco), y el baculovirus recombinante producido se preparó para su transfección en unas células de insecto de Sf9.

5 JAK3

El dominio de quinasa de JAK3 humano se amplificó a partir de ARNm de U937 usando la reacción de cadena de polimerasa con los siguientes cebadores:

10 XHOI-J3 5'-CCG CTC GAG TAT GCC TGC CAA GAC CCC ACG-3'
J3-KPNI 5'-CGG GGT ACC CTA TGA AAA GGA CAC GGA GTG-3'

Los productos de PCR de JAK3 se clonaron en el vector de expresión de HTb pFastBac (Gibco) a través de los sitios Xho I y Kpn 1. El plásmido de JACK3 se transformó a continuación en células de DH10Bac competentes (Gibco), y el baculovirus recombinante producido se preparó para su transfección en unas células de insecto de Sf9.

15 TYK2

TYK2

20 El dominio de quinasa de TYK2 humano se amplificó a partir de ARNm A549 usando la reacción de cadena de polimerasa con los siguientes cebadores:

HT2EK 5'-GGA GCA CTC GAG ATG CTA GCA CAC AAC CAG GTG-3'
ITY2.2R 5'-GGA GCA GGA ATT CCG GCG CTG CCG GTC AAA TCT GG-3'

25 Los productos de PCR de TYK2 se clonaron en pBlueBacHis2A (Invitrogen) a través del sitio EcoRT. El baculovirus de TYK2 recombinante producido se preparó para su transfección en unas células de insecto de Sf9.

Producción a gran escala de los dominios de quinasa

30 Las preparaciones de baculovirus a partir de cada uno de los miembros de la familia JAK se infectaron en cinco litros de células High Five (Invitrogen) cultivadas en un medio libre de suero High Five (Invitrogen) hasta una densidad de células de aproximadamente $1-2 \times 10^6$ células/ml. Las células están infectadas con virus a una MOI de 0,8-3,0. Las células se recolectaron y se lisaron. Los dominios de quinasa JAK se purificaron por cromatografía de afinidad sobre una columna de afinidad a quelatos de níquel Probond (Invitrogen).

35

Protocolos de ensayo

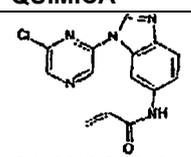
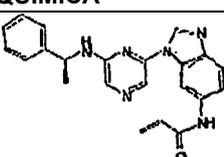
Los ensayos de quinasa se realizaron o bien en un ensayo ELISA basado en captura de 96 pocillos o en Optiplates de 384 pocillos (Packard) usando un kit de proteína tirosina quinasa Alphascreen. En ambos casos, el uso de aproximadamente 1,5 µg de dominio PTK purificada por afinidad en presencia de 50 mM de HEPES, pH 7,5, 10 mM de MgCl₂, 150 mM de NaCl y 10 µM-1 mM de ATP. El sustrato bionitilado biotina-ECPWLEEEEEAYGWMDf-NH₂ (concentración final de 5 µM) se usó como sustrato. En el ensayo ELISA, la fosforilación de tirosina se cuantificó siguiendo la transferencia a una placa para ELISA recubierta con avidina usando anticuerpo anti-fosfo-tirosina PY20 unido a peroxidasa. En el ensayo Alphascreen, se añadieron perlas de aceptor de fosfotirosina Alphascreen seguido de perlas de donador de estreptavidina bajo luz suave. Las placas para ELISA se leyeron en un BMG Fluorostar, las placas Alphascreen se leyeron en un Packard Fusion *Alpha*. Los inhibidores se añadieron a los ensayos quince minutos antes de la adición de ATP. Los inhibidores se añadieron en DMSO acuoso, con unas concentraciones de DMSO que nunca superaron el 1 %.

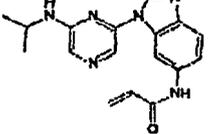
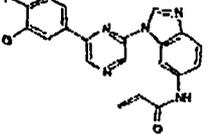
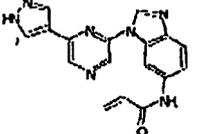
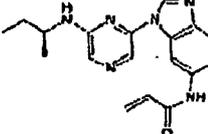
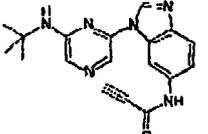
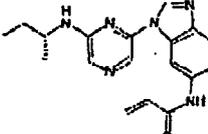
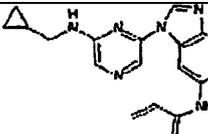
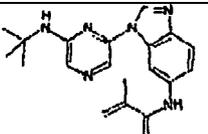
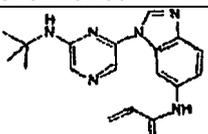
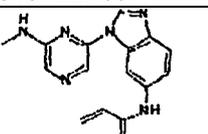
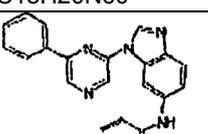
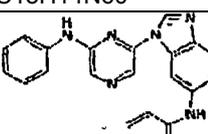
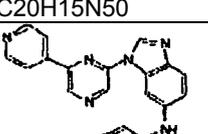
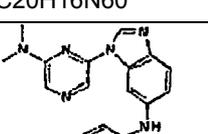
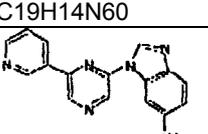
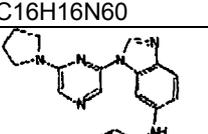
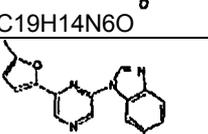
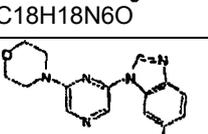
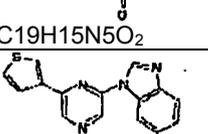
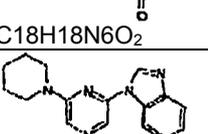
50 **Resultados**

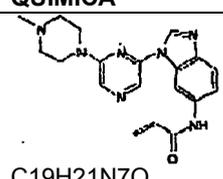
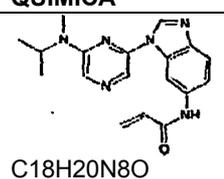
La actividad de unos compuestos seleccionados se muestra en la tabla 3. Los compuestos que mostraron una capacidad de inhibir un 50 % de la actividad de JAK a una concentración de 20 µM (medido en condiciones estándar, véase Procedimientos), se designan como "+".

55

Tabla 3

QUÍMICA	Jak2	Jak3	QUÍMICA	Jak2	Jak3
 C14H10CIN50	-	+	 C22H20N60	+	+

QUIMICA	Jak2	Jak3	QUIMICA	Jak2	Jak3
 C17H18N6O	-	+	 C20H13ClFN5O	-	+
 C17H13N7O	-	+	 C18H20N6O	-	+
 C18H18N6O	-	+	 C18H20N6O	-	+
 C18H18N6O	-	+	 C18H22N6O	-	+
 C18H20N6O	-	+	 C15H14N6O	-	+
 C20H15N5O	-	+	 C20H16N6O	-	+
 C19H14N6O	-	+	 C16H16N6O	-	+
 C19H14N6O	-	+	 C18H18N6O	-	+
 C19H15N5O ₂	-	+	 C18H18N6O ₂	-	+
 C18H13N5OS	-	+	 C19H20N6O	-	+

QUÍMICA	Jak2	Jak3	QUÍMICA	Jak2	Jak3
 C19H21N7O	-	+	 C18H20N8O	-	+

A través de la totalidad de la presente memoria descriptiva, se entenderá que la palabra “comprender”, o variaciones tales como “comprende” o “comprendiendo/ que comprende”, implica la inclusión de un elemento, entero o etapa indicado, o grupo de elementos, enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro elemento, entero o etapa, o grupo de elementos, enteros o etapas.

Cualquier discusión de documentos, hechos, materiales, dispositivos, artículos o similares que se haya incluido en la presente memoria descriptiva es únicamente para el fin de proporcionar un contexto para la presente invención. No ha de tomarse como una admisión de que cualquiera o la totalidad de estos elementos formen parte de la base de la técnica anterior o sean conocimiento general común en el campo pertinente para la presente invención tal como éste existía en Australia o en cualquier otra parte antes de la fecha de prioridad de cada reivindicación de la presente solicitud.

Referencias

1. Discafani CM, Carroll ML, Floyd MB Jr, Hollander IJ, Husain Z, Johnson BD, Kitchen D, May MK, Malo MS, Minnick AA Jr, Nilakantan R, Shen R, Wang YF, Wissner A, and Greenberger LM. (1999) Irreversible inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinases with in vivo activity by N-[4-[(3-bromophenyl)amino]-6-quinazolinyl]-2-butyramide (CL-387,785). *Biochem Pharmacol.* 57, 917–25.
2. Finet, J.-P., Fedorov, A.Y., Combes, S., and Buyer, G. (2002) Recent Advances in Ullmann Reaction: Copper (II) Diacetate Catalysed N-, O- and S- Arylation Involving Polycoordinate Heteroatomic Derivatives. *Curr. Org. Chem.* 6, 597–626.
3. Fry DW, Bridges AJ, Denny WA, Doherty A, Greis KD, Hicks JL, Hook KE, Keller PR, Leopold WR, Loo JA, McNamara Dj, Nelson JM, Sherwood V, Smaill JB, Trumpp-Kallmeyer S, and Dobrusin EM. (1998) Specific, irreversible inactivation of the epidermal growth factor receptor and erbB2, by a new class of tyrosine kinase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95, 12022–7.
4. Hovens CM, Stacker SA, Andres AC, Harpur AG, Ziemiecki A, and Wilks AF. (1992) RYK, a receptor tyrosine kinase-related molecule with unusual kinase domain motifs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89, 11818–22.
5. Kozma SC, Redmond SM, Fu XC, Saurer SM, Groner B, and Hynes NE. (1988) Activation of the receptor kinase domain of the trk oncogene by recombination with two different cellular sequences. *EMBO J.* 7, 147–54.
6. Kumada, M.; Tamao, K.; Sumitani, K. (1988) Phosphine-Nickel complex catalysed cross-coupling of Grignard reagents with aryl and alkenyl halides: 1,2-Dibutylbenzene. *Org. Synth. Cell.* vol.6, 407.
7. Levitzki A. (2000) Protein Tyrosine Kinase inhibitors as Therapeutic Agents. *Top. Curr. Chem.* 211, 1–15.
8. Miyaura, N. and Suzuki, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds (1995) *Chem Rev.* 95, 2457
9. Negishi, E. (2002) A genealogy of Pd-catalyzed cross-coupling. *J. Organomet. Chem.* 653,34–40
10. Russell SM, Tayebi N, Nakajima H, Riedy MC, Roberts JL, Aman MJ, Migone TS, Noguchi M, Markert ML, Buckley RH, y col. (1995) Mutation of Jak3 in a patient with SCID: essential role of Jak3 in lymphoid development. *Science*, 270,797–800.
11. Sadowski I, Stone JC, and Pawson T. (1986) A noncatalytic domain conserved among cytoplasmic proteintyrosine kinases modifies the kinase function and transforming activity of Fujinanti sarcoma virus P130gag-fps. *Mol Cell Biol.* 6, 4396–408.
12. Smaill, J. B.; Palmer, B. D.; Rewcastle, G. W.; Denny, W. A.; McNamara, D. J.; Dobrusin, E. M.; Bridges, A. J.; Zhou, H.; Showalter, H. D. H.; Winters, R. T.; Leopold, W. R.; Pry, D. W.; Nelson, J. M.; Slintak, V.; Elliot, W. L.; Roberts, B. J.; Vincent, P. W.; Patmore, S.J. (1999) Tyrosine Kinase Inhibitors. 15.4-(Phenylamino)quinazoline and 4-(Phenylamino)pyrido[d]pyrimidine Acrylamides as Irreversible Inhibitors of the ATP Binding Site of the Epidermal Growth Factor Receptor *J. Med. Chem.*, 42,1803–1815.

- 5 13. Smaill, J. B.; Reweaatle, G. W.; Loo, J. A.; Greis, K. D.; Chan, O. H.; Reyner, E. L.; Lipka, E.; Showalter, H. D. H.; Vincent, P. W.; Elliott, W. L.; Denny, W. A. (2000) Tyrosine Kinase Inhibitors. 17. Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor: 4-(Phenylamino)quinazoline- and 4-(Phenylamino)pyrido[3,2-dipyrimidine-6- acrylamides Bearing Additional Solubilizing Functions J. Med. Chem., 43, 1380-1397.
- 10 14. Smaill, J. B.; Showalter, H. D. H.; Zhou, H.; Bridges, A. J.; McNamara, D. J.; Fry, D. W.; Nelson, J. M.; Sherwood, V.; Vincent, P. W.; Roberts, B. J.; Elliott, W. L.; Denny, W. A. (2001) Tyrosine Kinase Inhibitors. 18.6-Substituted 4-Anilinoquinazolines and 4-Anilinopyrido[3,4-d]pyrimidines as Soluble, Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor J. Med. Chem., 44, 429-440.
- 15 15. Spiotto MT, and Chung TD. (2000) STAT3 mediates IL-6-included growth inhibition in the human prostate cancer cell line LNCaP. Prostate 42, 88-98
- 16 16. Stille, J.K. (1986). The Palladium-Catalysed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles. Angew. Chem., Int Ed. Engl. 25, 508
- 20 17. Tsou, H.-R; Mamuya, N.; Johnson, B. D.; Reich, M. F.; Cruber, B. C.; Ye, F.; Nilakantan, R.; Shen, R.; Discafani, C.; DeBlanc, R.; Davis, R.; Kochn, F. E.; Greenberger, L. M.; Wang, Y.-P.; and Wissner, A. (2001) 6-Substituted- 4-(3-bromophenylamino)quinazolines as Putative Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER-2) Tyrosine Kinases with Enhanced Antitumor Activity J. Med. Chem., 44, 2719-2734.
- 25 18. Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, Ralph SJ, Zurcher G, Ziemiecki A. (1991) Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase. Mol Cell Biol. 11, 2057-65.
- 30 19. Wilks AF, and Kurban RR (1988) Isolation and structural analysis of murine c-fes cDNA clones. Oncogene 3, 289-94
- 35 20. Wissner, A.; Overbeek, E.; Reich, M. F.; Floyd, M. B.; Johnson, B. D.; Mamuya, N.; Rosfjord, E. C.; Discafani, C.; Davis, R.; Shi, X.; Rabindran, S. K.; Gruber, B. C.; Ye, F.; Hallett, W. A.; Nilakantan, R.; Shen, R.; Wang, Y.-F.F.; Greenberger, L. M.; and Tsou, H.-R (2003) Synthesis and Structure-Activity Relationships of 6,7-Disubstituted 4- Anitinoquinoline-3-carbonitriles. The Design of an Orally Active, Irreversible Inhibitor of the Tyrosine Kinase Activity of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and the Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER-2) J. Med. Chem. 46, 49-63.

Listado de secuencias

- 40 <110> Cytopia Research Pty Ltd
- <120> Inhibidores de quinasa selectivos
- <130> N.97733
- 45 <140> Documento EP 05700054.9
- <141> 2005-01-12
- <150> Documento PCT/AU05/00022
- 50 <151> 2005-01-12
- <150> Documento AU 2004900103
- <151> 2004-01-12
- 55 <160> 13
- <170> PatentIn versión 3.3
- <210> 1
- 60 <211> 30
- <212> ADN
- <213> Artificial
- <220>
- 65 <223> Cebador XHOI-J1

ES 2 389 203 T3

<400> 1

ccgctcgaga ctgaagtgga cccacacat
30

5 <210> 2
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Cebador J1-KPNI

<400> 2

cggggtacct tattttaaaa gtgcttcaaa
30

15 <210> 3
<211> 31

20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador SALI-jk2

25 <400> 3

acgcgctcgac ggtgcctttg aagaccggga t
31

30 <210> 4
<211> 34
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Cebador jk2-NOTI

<400> 4

atagtttagc ggccgctcag aatgaaggtc attt
34

40 <210> 5
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador XHOI-J3

50 <400> 5

ccgctcgagt atgcctgccca agaccccaacg
30

55 <210> 6
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

60 <220>
<223> Cebador J3-KPNI

ES 2 389 203 T3

Ser Gly Ala Phe Glu Asp Arg Asp Pro Thr Gln Phe Glu Glu Arg His
 1 5 10 15

Leu Lys Phe Leu Gln Gln Leu Gly Lys Gly Asn Phe Gly Ser Val Glu
 20 25 30

Met Cys Arg Tyr Asp Pro Leu Gln Asp Asn Thr Gly Glu Val Val Ala
 35 40 45

Val Lys Lys Leu Gln His Ser Thr Glu Glu His Leu Arg Asp Phe Glu
 50 55 60

Arg Glu Ile Glu Ile Leu Lys Ser Leu Gln His Asp Asn Ile Val Lys
 65 70 75 80

Tyr Lys Gly Val Cys Tyr Ser Ala Gly Arg Arg Asn Leu Lys Leu Ile
 85 90 95

Met Glu Tyr Leu Pro Tyr Gly Ser Leu Arg Asp Tyr Leu Gln Lys His
 100 105 110

Lys Glu Arg Ile Asp His Ile Lys Leu Leu Gln Tyr Thr Ser Gln Ile
 115 120 125

Cys Lys Gly Met Glu Tyr Leu Gly Thr Lys Arg Tyr Ile His Arg Asp
 130 135 140

Leu Ala Thr Arg Asn Ile Leu Val Glu Asn Glu Asn Arg Val Lys Ile
 145 150 155 160

Gly Asp Phe Gly Leu Thr Lys Val Leu Pro Gln Asp Lys Glu Tyr Tyr
 165 170 175

Lys Val Lys Glu Pro Gly Glu Ser Pro Ile Phe Trp Tyr Ala Pro Glu
 180 185 190

ES 2 389 203 T3

Ser Leu Thr Glu Ser Lys Phe Ser Val Ala Ser Asp Val Trp Ser Phe
 195 200 205

Gly Val Val Leu Tyr Glu Leu Phe Thr Tyr Ile Glu Lys Ser Lys Ser
 210 215 220

Pro Pro Ala Glu Phe Met Arg Met Ile Gly Asn Asp Lys Gln Gly Gln
 225 230 235 240

Met Ile Val Phe His Leu Ile Glu Leu Leu Lys Asn Asn Gly Arg Leu
 245 250 255

Pro Arg Pro Asp Gly Cys Pro Asp Glu Ile Tyr Met Ile Met Thr Glu
 260 265 270

Cys Trp Asn Asn Asn Val Asn Gln Arg Pro Ser Phe Arg Asp Leu Ala
 275 280 285

Leu Arg Val Asp Gln Ile Arg Asp Asn Met Ala Gly
 290 295 300

<210> 11
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> Quinasa JAK2 j1h

5

<400> 11

Lys Asn Gln Pro Thr Glu Val Asp Pro Thr His Phe Glu Lys Arg Phe
 1 5 10 15

Leu Lys Arg Ile Arg Asp Leu Gly Glu Gly His Phe Gly Lys Val Glu
 20 25 30

Leu Cys Arg Tyr Asp Pro Glu Asp Asn Thr Gly Glu Gln Val Ala Val
 35 40 45

Lys Ser Leu Lys Pro Glu Ser Gly Gly Asn His Ile Ala Asp Leu Lys
 50 55 60

10

Lys Glu Ile Glu Ile Leu Arg Asn Leu Tyr His Glu Asn Ile Val Lys
 275 280 285

Gly Phe Glu Ala Leu Leu Lys
 290 295

ES 2 389 203 T3

<210> 12
 <211> 299
 <212> PRT
 <213> Quinasa JAK2 j3h

5

<400> 12

Ala Gln Leu Tyr Ala Cys Gln Asp Pro Thr Ile Phe Glu Glu Arg His
 1 5 10 15

Leu Lys Tyr Ile Ser Gln Leu Gly Lys Gly Asn Phe Gly Ser Val Glu
 20 25 30

Leu Cys Arg Tyr Asp Pro Leu Ala His Asn Thr Gly Ala Leu Val Ala
 35 40 45

Val Lys Gln Leu Gln His Ser Gly Pro Asp Gln Gln Arg Asp Phe Gln
 50 55 60

Arg Glu Ile Gln Ile Leu Lys Ala Leu His Ser Asp Phe Ile Val Lys
 65 70 75 80

Tyr Arg Gly Val Ser Tyr Gly Pro Gly Arg Pro Glu Leu Arg Leu Val
 85 90 95

Met Glu Tyr Leu Pro Ser Gly Cys Leu Arg Asp Phe Leu Gln Arg His
 100 105 110

Arg Ala Arg Leu Asp Ala Ser Arg Leu Leu Leu Tyr Ser Ser Gln Ile
 115 120 125

Cys Lys Gly Met Glu Tyr Leu Gly Ser Arg Arg Cys Val His Arg Asp
 130 135 140

Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Val Glu Ser Glu Ala His Val Lys Ile
 145 150 155 160

ES 2 389 203 T3

Ala Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Pro Leu Asp Lys Asp Tyr Tyr
 165 170 175

Val Val Arg Glu Pro Gly Gln Ser Pro Ile Phe Trp Tyr Ala Pro Glu
 180 185 190

Ser Leu Ser Asp Asn Ile Phe Ser Arg Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe
 195 200 205

Gly Val Val Leu Tyr Glu Leu Phe Thr Tyr Cys Asp Lys Ser Cys Ser
 210 215 220

Pro Ser Ala Glu Phe Leu Arg Met Met Gly Cys Glu Arg Asp Val Pro
 225 230 235 240

Ala Leu Cys Arg Leu Leu Glu Leu Leu Glu Glu Gly Gln Arg Leu Pro
 245 250 255

Ala Pro Pro Ala Cys Pro Ala Glu Val His Glu Leu Met Lys Leu Cys
 260 265 270

Trp Ala Pro Ser Pro Gln Asp Arg Pro Ser Phe Ser Ala Leu Gly Pro
 275 280 285

Gln Leu Asp Met Leu Trp Ser Gly Ser Arg Gly
 290 295

<210> 13
 <211> 296
 <212> PRT
 <213> Quinasa JAK2 tyk2

<400> 13

Asn Arg Asp Ser Pro Ala Val Gly Pro Thr Thr Phe His Lys Arg Tyr
 1 5 10 15

Leu Lys Lys Ile Arg Asp Leu Gly Glu Gly His Phe Gly Lys Val Ser
 20 25 30

5

10

ES 2 389 203 T3

Leu Tyr Cys Tyr Asp Pro Thr Asn Asp Gly Thr Gly Glu Met Val Ala
 35 40 45

Val Lys Ala Leu Lys Ala Asp Cys Gly Pro Gln His Arg Ser Gly Trp
 50 55 60

Lys Gln Glu Ile Asp Ile Leu Arg Thr Leu Tyr His Glu His Ile Ile
 65 70 75 80

Lys Tyr Lys Gly Cys Cys Glu Asp Gln Gly Glu Lys Ser Leu Gln Leu
 85 90 95

Val Met Glu Tyr Val Pro Leu Gly Ser Leu Arg Asp Tyr Leu Pro Arg
 100 105 110

His Ser Ile Gly Leu Ala Gln Leu Leu Leu Phe Ala Gln Gln Ile Cys
 115 120 125

Glu Gly Met Ala Tyr Leu His Ala His Asp Tyr Ile His Arg Asp Leu
 130 135 140

Ala Ala Arg Asn Val Leu Leu Asp Asn Asp Arg Leu Val Lys Ile Gly
 145 150 155 160

Asp Phe Gly Leu Ala Lys Ala Val Pro Glu Gly His Glu Tyr Tyr Arg
 165 170 175

Val Arg Glu Asp Gly Asp Ser Pro Val Phe Trp Tyr Ala Pro Glu Cys
 180 185 190

Leu Lys Glu Tyr Lys Phe Tyr Tyr Ala Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly
 195 200 205

Val Thr Leu Tyr Glu Leu Leu Thr His Cys Asp Ser Ser Gln Ser Pro
 210 215 220

Pro Thr Lys Phe Leu Glu Leu Ile Gly Ile Ala Gln Gly Gln Met Thr
 225 230 235 240

ES 2 389 203 T3

Val Leu Arg Leu Thr Glu Leu Leu Glu Arg Gly Glu Arg Leu Pro Arg
245 250 255

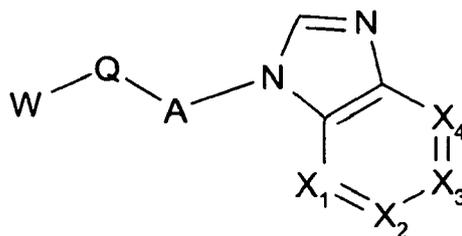
Pro Asp Lys Cys Pro Cys Glu Val Tyr His Leu Met Lys Asn Cys Trp
260 265 270

Glu Thr Glu Ala Ser Phe Arg Pro Thr Phe Glu Asn Leu Ile Pro Ile
275 280 285

Leu Lys Thr Val His Glu Lys Tyr
290 295

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general I

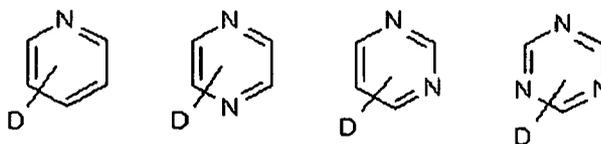


5

I

o profármacos, sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas o diastereómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que:

10 cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es carbono, en el que uno está sustituido con Z y el resto independientemente con Y; o uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es N, y los otros son carbono, en el que un carbono está sustituido con Z y el resto independientemente con Y;
A es un anillo que está seleccionado de:



15

en el que D está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, halógeno, amino;
Q es un enlace, halógeno, alquilo C₁₋₄, O, S, SO, SO₂, CO, CS;
W es:

20

(i) NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-CF₃, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alqueno C₂₋₆, ciclohetalquilo, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo, o R₁ y R₂ se unen para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₃; y R₃ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-hetarilo, COR₄ en el que R₄ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo;

25

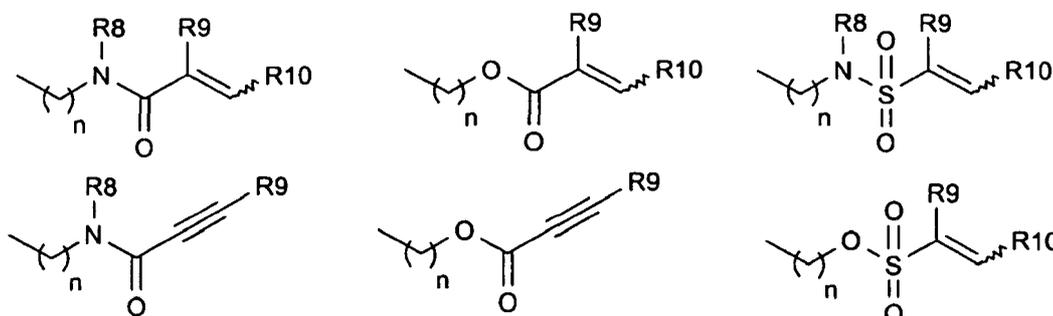
O
(ii) H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, cicloalquilo C₃₋₈, ciclohetalquilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo;

30

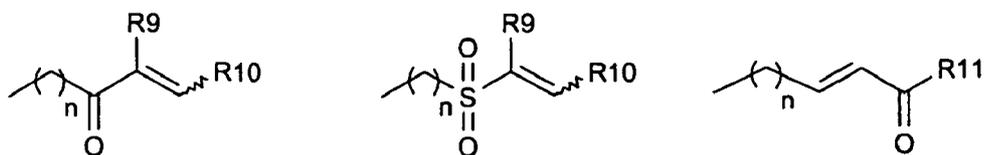
Y es H, halógeno, CN, CF₃, nitro, OH, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, O-alquilhetarilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-ciclohetalquilo, S-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₁₋₄-NR₅R₆, NR₅R₆, NR₅COR₆, NR₅SO₂R₆; y cada uno de R₅ y R₆ es independientemente H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-6 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₇ y R₇ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄;

35

Z está seleccionado de:



40



en el que R8 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄

R9 y R10 están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR₁₂R₁₃, alquilo C₁₋₄-OR₁₂, alquilhetarilo C₁₋₄;

R11 está seleccionado de OH, O-alquilo C₁₋₄, NR₁₂R₁₃;
n es 0-4;

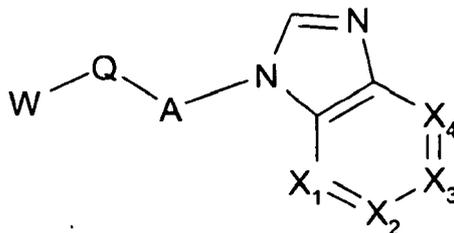
en el que R12 y R13 están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₁₄; y R14 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄; y en el que dichos profármacos están seleccionados de:

- compuestos en los que un residuo de aminoácido, o una cadena de polipéptido de dos o más residuos de aminoácido, se une covalentemente a través de un enlace peptídico a un grupo amino libre de dicho compuesto de fórmula I;

- compuestos en los que un carbonato, carbamato, amida o éster alquílico está unido covalentemente a un grupo amino o hidroxilo libre de dicho compuesto de fórmula I, a través de una cadena lateral de profármaco de carbono carabónico; y

- derivados de fosfato en los que la cadena lateral de profármaco se une a través de un enlace fósforo-oxígeno a un hidroxilo libre de dicho compuesto de fórmula I.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula II:

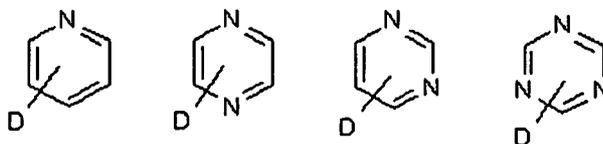


II

o profármacos, sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas o diastereómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que:

cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es carbono, en el que uno está sustituido con Z y el resto independientemente con Y; o uno de X₁, X₂, X₃, X₄ es N, y los otros son carbono, en el que un carbono está sustituido con Z y el resto independientemente con Y;

A es un anillo que está seleccionado de:



en el que D está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, halógeno, amino;

Q es un enlace, halógeno, alquilo C₁₋₄, O, S, SO, SO₂, CO, CS;

W es:

(i) NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-CF₃, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilhetarilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alqueno C₂₋₆, ciclohetalquilo, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ ciclohetalquilo, o R₁ y R₂ se unen para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR₃; y R₃ está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, hetarilo, alquilarilo C₁₋₄,

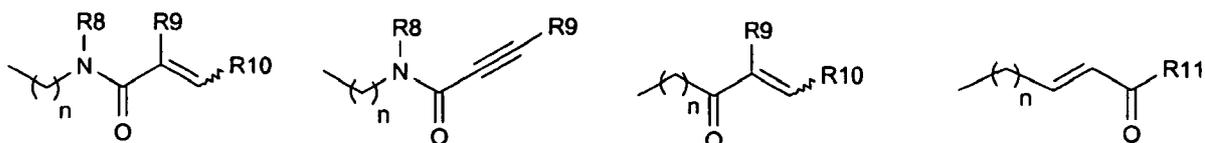
alquilheterilo C₁₋₄, COR4 en el que R4 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, heterilo;
O

(ii) W es H, alquilo C₁₋₄, arilo, heterilo, cicloalquilo C₃₋₈, cicloheteralquilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilheterilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₈, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo, alquilo C₁₋₄ cicloheteralquilo;

5

Y es H, halógeno, CN, CF₃, nitro, OH, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR5R6, alquilheterilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-NR5R6, O-alquilheterilo C₁₋₄, O-alquilo C₁₋₄-cicloheteralquilo, S-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₂₋₄-O-alquilo C₁₋₄, S-alquilo C₁₋₄-NR5R6, NR5R6, NR5COR6, NR5SO₂R6; y cada uno de R5 y R6 es independientemente H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-6 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR7 y R7 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄, arilo, heterilo, alquilarilo C₁₋₄, alquilheterilo C₁₋₄; Z está seleccionado de:

10



15

en el que R8 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄;

R9 y R10 están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄-NR12R13, alquilo C₁₋₄-OR12, alquilheterilo C₁₋₄;

R11 está seleccionado de OH, O-alquilo C₁₋₄, NR12R13;

n es 0-4;

en el que: R12 y R13 están seleccionados independientemente de H, alquilo C₁₋₄, o pueden unirse para formar un anillo de 3-8 miembros opcionalmente sustituido que contiene opcionalmente un átomo que está seleccionado de O, S, NR14; y R14 está seleccionado de H, alquilo C₁₋₄; y en el que dichos profármacos están seleccionados de:

25

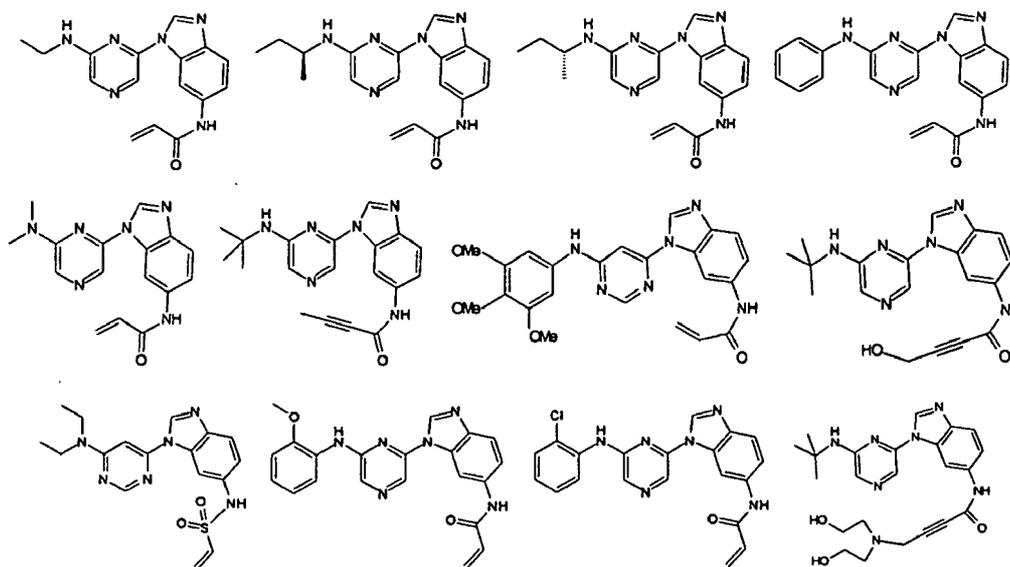
- compuestos en los que un residuo de aminoácido, o una cadena de polipéptido de dos o más residuos de aminoácido, se une covalentemente a través de un enlace peptídico a un grupo amino libre de dicho compuesto de fórmula I;

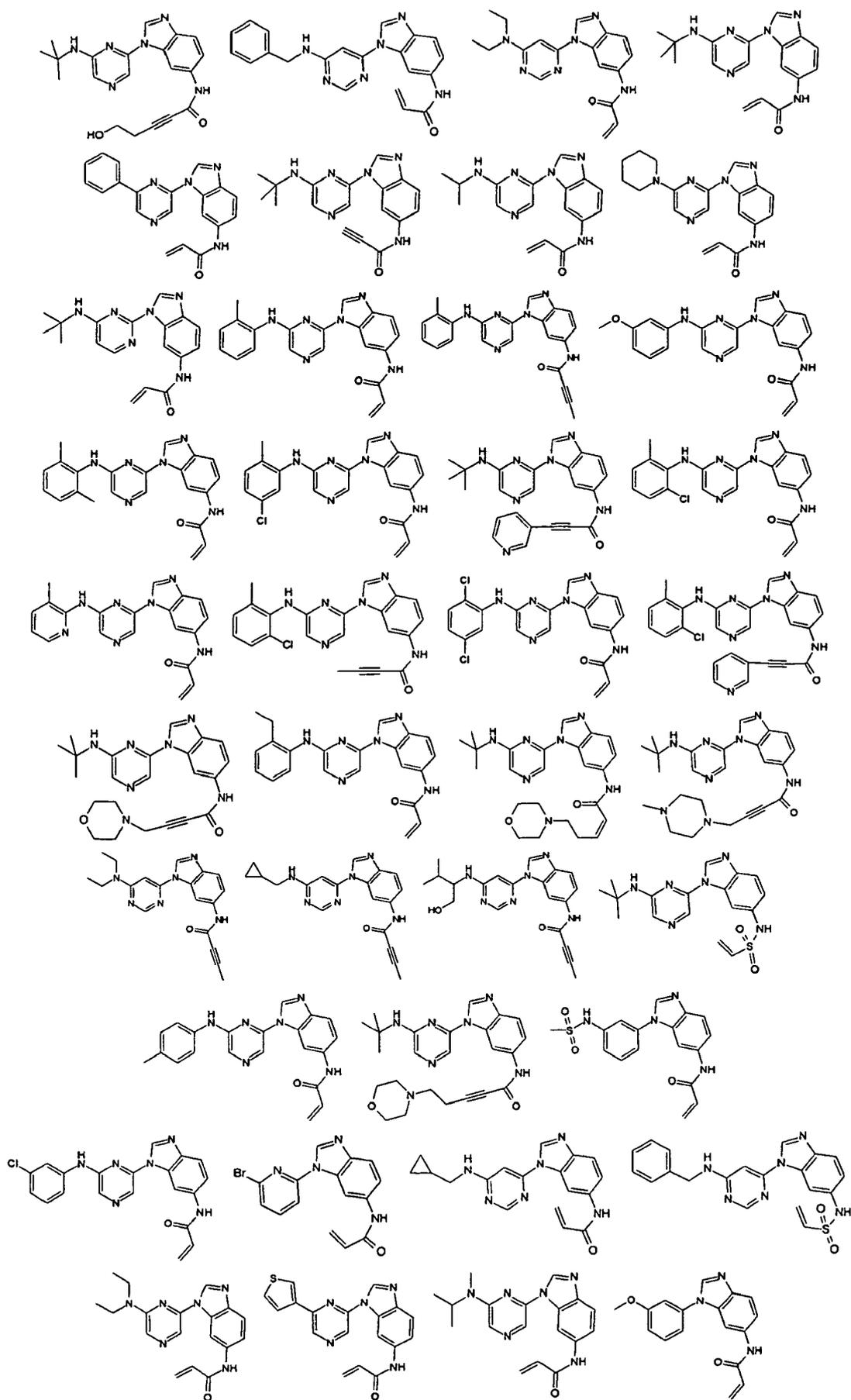
- compuestos en los que un carbonato, carbamato, amida o éster alquílico está unido covalentemente a un grupo amino o hidroxilo libre de dicho compuesto de fórmula I, a través de una cadena lateral de profármaco de carbono carabonílico; y

- derivados de fosfato en los que la cadena lateral de profármaco se une a través de un enlace fósforo-oxígeno a un hidroxilo libre de dicho compuesto de fórmula I.

30

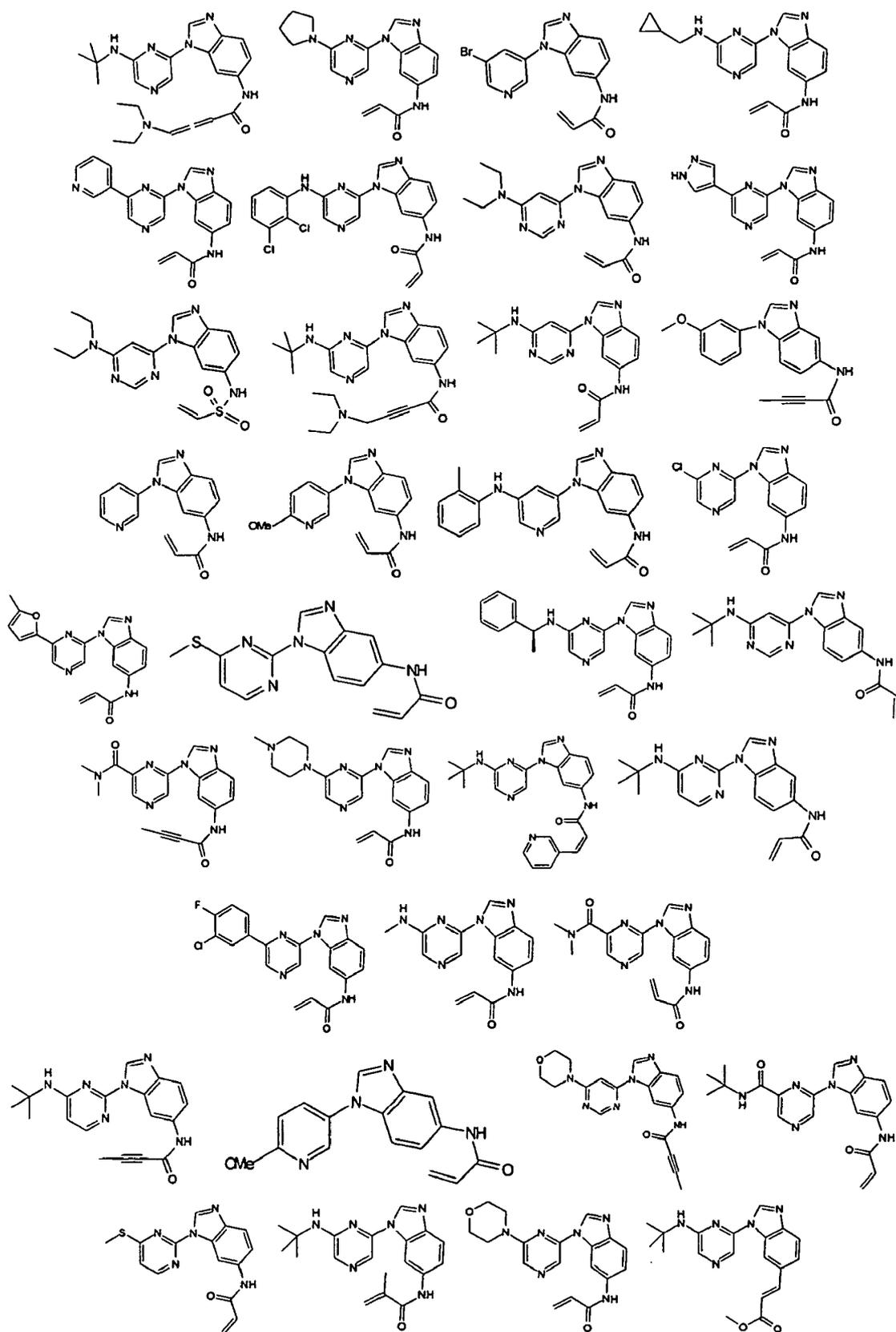
35 3. Un compuesto que está seleccionado del grupo que consiste en:



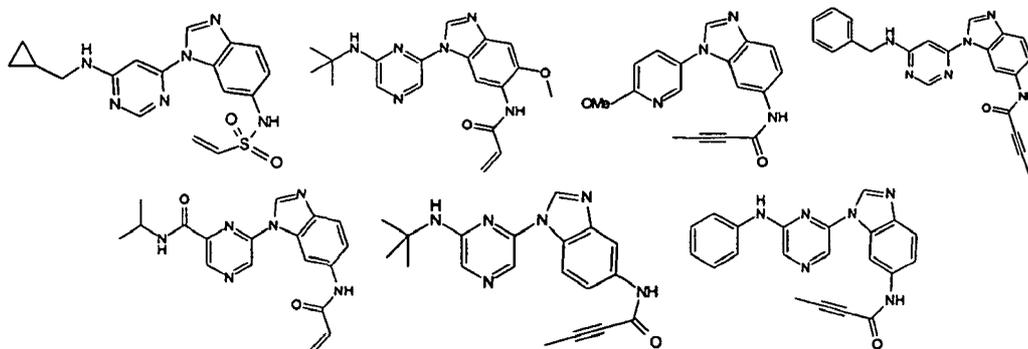


5

10



5



- 5 4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto inhibe de forma irreversible JAK-3.
5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto inhibe de forma selectiva JAK 3 con respecto a JAK 1 o JAK 2.
- 10 6. Una composición que comprende un vehículo y al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
- 15 7. Por lo menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una composición de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en un método para tratar una patología que está seleccionada del grupo que consiste en atopia, hipersensibilidad mediada por células, enfermedades reumáticas, trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades virales, enfermedades proliferativas y cáncer.
- 20 8. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la atopia está seleccionada de asma alérgico, dermatitis atópica y rinitis alérgica.
9. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la hipersensibilidad mediada por células es dermatitis alérgica de contacto o neumonitis por hipersensibilidad.
- 25 10. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la enfermedad reumática está seleccionada del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, artritis juvenil, síndrome de Sjögren, esclerodermia, polimiositis, espondilitis anquilosante y artritis psoriásica.
- 30 11. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el trasplante es rechazo de trasplante, maduración de células B o proliferación de células T.
12. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la enfermedad viral está causada por un virus que está seleccionado del grupo que consiste en el virus de Epstein Barr, hepatitis B, hepatitis C, VIH, VLTH 1, virus Varicela-Zóster y virus del papiloma humano.
- 35 13. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el cáncer es leucemia, linfoma o cáncer de próstata.
- 40 14. Por lo menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una composición de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en un método para tratar una patología que está seleccionada del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer, asma, eccema, alergia alimentaria, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, inflamación cutánea y supresión inmunitaria por tumor sólido.
- 45 15. Por lo menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una composición de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso como un agente inmunosupresor.
- 50 16. Un compuesto o composición de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el uso del agente inmunosupresor es para el tratamiento de patologías que están seleccionados del grupo que consiste en trasplantes de órganos, lupus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis, diabetes de tipo I, complicaciones de diabetes, asma, dermatitis atópica, trastornos de tiroides autoinmunitarios, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

```

12R : SGA FEDRDP TQFEERHLKFLQQLGKGNFSGVEMCRYPDPLQONTGEEVAVVKKL.OHSTEEHLRDFEREIEIL:70
11R : KNOPTVEDPTHFEKRLKRI RD LGEGHFGKVELCRYDPEON.TGEQVAVKSLKPEBGGNMIADLXKEIEIL:70
13R : AOLYACDPTIFEEERHLKYISOLGKGNFSGVELCRYDPLAHNTGALVAVKQL.OHSGPOQRDFQREIQIL:70
14R : NROSPA VGP TTFHKRYLKKIRDLQEGHFGKVELCRYDPTNDGTGEMVAVKALKADCCOPHRGGWKQEIIL:71
      CPT F0 R LK I LG G FG V0 i c r y d p T G G V A V K L 5 0 h d e i i l
      80
12R : KSLQHDNI VKYKGVCSAGRRNLKLI MEYLPYGBLRDYLQKHKERIDHIKLLLOYTSQICKGMEYLGTKRYI:141
11R : RMLYHENI VKYKGICTEODGGNGIKLIMFLPSGSLKEYLPKNKNKINLKQQLKYAVOICKGM DYLGSRQYV:141
13R : KALHSDFI VKYRGSYSGPPELRVLVMEYLPSPGCLRDFLORHARLDASRLLLYSSQICKGMEYLGSRRCV:141
14R : RTLYHEHI VKYKGCCEDDGGEKSLOLVMEYVPLGSLRDYLP R H S I G L . A . Q L L L F A O O I C E G M A Y L H A M D Y I : 1 4 0
      L h i v k y k g c i l m e y i p g b l r d y l h i l y o i c a o m y l g y
      160
12R : HRDLAARNLVENEMRVKIGDFGLTKVLPDQKKEYYKVKKEPGESEPIFWYAPESLTESKFSVASDVWSFGVVL:212
11R : HRDLAARNLVSEHQVKGIGDFGLTKAIETDKKEYYTVKDDSDSPVFWYAPESLMOJKFYIASDVWSFGVVL:212
13R : HRDLAARNLVSEAHVKIADDFGLAKLLPLDKOYVVRPEGOSPIFWYAPESLSDNIFSRQSDVWSFGVVL:212
14R : HRDLAARNVLVNDRLVKIGDFGLAKAVPEGMEYVVRREGOSPVFWYAPESLKEYKFYASDVWSFGVVL:211
      HRDLAARNLV00 VKI9DFGLK P d a o y y v 0 0 S P F W Y A P E L K F a S D V W S F G V L
      240
12R : YELFTYIEKSKSPPAEFMRMI ONDKQGGOMI VFHLLI ELLKNNGRLPRDGGCPDEIYMI MTECWNMNVNQRPS:283
11R : HELTYCDSDSSPMAFLFKMI O . PTHGGOMTYVTLVMTLKEGKRLPCPPMCPPEVYQLMRRKCFEOPSNRTS:282
13R : YELTYCDKSCSP8AEFLRMMOGERD.VPALCRLELLEGGORLPAPPAEVEVHELMKLCWAPSPDORPS:282
14R : YELTYCDSDSPPTKFLLELIGIA.OGOMTYVTLRTELLEGERLPRPKCPCPEVYHLMKNCWETA8FRPT:281
      Y E L T Y C B 8 S P 8 F I M I G 0 0 m y l l 0 i l 0 R L P P C P E V Y I M C W
      300
12R : FRDLALRVDDQIRONMAG:300
11R : FONLIEGFEALLK...:295
13R : FSALOPLOLMLWSGSR0:299
14R : FENLIPILKTYHEKY...:296
      F

```

Figura 1

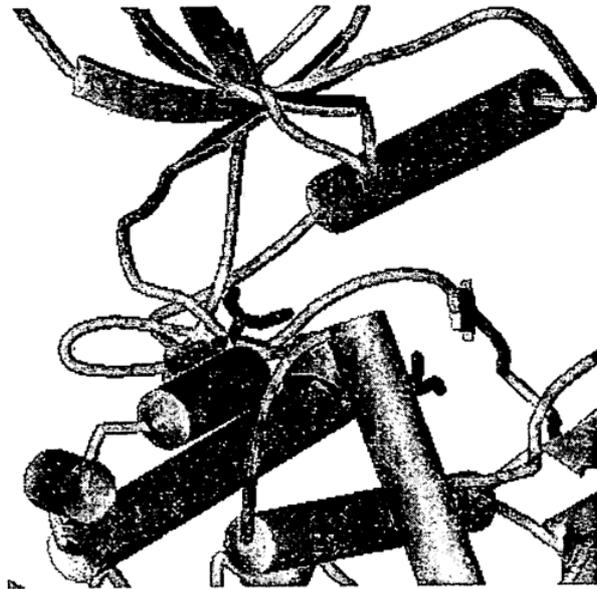


Figura 2