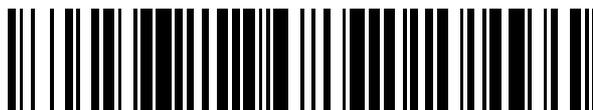


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 039**

51 Int. Cl.:

C07D 409/12 (2006.01)

A61K 31/4535 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01967621 .2**

96 Fecha de presentación: **27.09.2001**

97 Número de publicación de la solicitud: **1322641**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.07.2003**

54 Título: **Derivados de sulfonamida hidrófilos farmacéuticamente activos como inhibidores de proteínas JunCinasas**

30 Prioridad:

27.09.2000 EP 00810886

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

04.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

04.12.2012

73 Titular/es:

**MERCK SERONO SA (100.0%)
CENTRE INDUSTRIEL
1267 COINSINS, VAUD, CH**

72 Inventor/es:

**HALAZY, SERGE;
CHURCH, DENNIS;
CAMPS, MONTSERRAT;
GOTTELAND, JEAN-PIERRE;
RUECKLE, THOMAS;
BIAMONTE, MARCO y
ARKINSTALL, STEPHEN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 392 039 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

Derivados de sulfonamida hidrófilos farmacéuticamente activos como inhibidores de proteínas JunCinasas.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a derivados de sulfonamida sustancialmente hidrófilos o derivados de sulfonamida que tienen un resto sustancialmente hidrófilo. Dichos derivados de sulfonamida son en particular para uso como compuestos farmacéuticamente activos. También, la presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas que contienen tales derivados de sulfonamida. En particular, la presente invención se refiere a derivados de sulfonamida que son útiles en el tratamiento y/o prevención de trastornos del sistema inmunitario y del neuronal. Específicamente, los derivados de sulfonamida de la presente invención muestran una actividad moduladora
10 sustancial, en particular inhibitoria, de la función o rutas de las JNK (Jun-Cinasas), respectivamente.

Antecedentes de la invención

La apoptosis denota las complejas contorsiones de la membrana y orgánulos de una célula mientras sufre el proceso de muerte celular programada. Durante dicho proceso, la célula activa un programa suicida intrínseco y se destruye a sí misma sistemáticamente. Se puede observar la siguiente serie de eventos:

- 15 • La superficie de la célula empieza a formar ampollas y expresa señales profagocíticas. Después, la célula apoptótica entera se fragmenta en vesículas unidas a la membrana, que son rápida y netamente eliminadas por fagocitosis, de tal modo que hay un daño mínimo en el tejido circundante.
- Después, la célula se separa de sus vecinas.

20 El núcleo también sufre un patrón característico de cambios morfológicos mientras comete suicidio genético, la cromatina se condensa y es escindida específicamente en fragmentos de ADN.

La muerte celular neuronal juega un importante papel en asegurar que el sistema nervioso se desarrolle normalmente. Parece que la muerte de las neuronas en desarrollo depende del tamaño de la diana que enervan: las células con menos compañeras sinápticas son más proclives a morir que las que han formado sinapsis múltiples. Esto puede reflejar un proceso, que equilibra el número relativo de neuronas pre- a post-sinápticas en el sistema nervioso en desarrollo. Aunque se supuso que la muerte celular neuronal era apoptótica, sólo recientemente se ha demostrado de manera concluyente que las neuronas del cerebro de los roedores en desarrollo sufren apoptosis, clasificada por morfología y fragmentación del ADN. Como la muerte celular durante el desarrollo es claramente un proceso no patológico, se entiende que las células en realidad dejan de existir.

30 La muerte neuronal se produce mediante procesos bien apoptóticos o bien necróticos, después de lesiones nerviosas traumáticas o durante enfermedades neurodegenerativas. Están emergiendo múltiples componentes que juegan un papel clave en la impulsión de la muerte celular neuronal programada. Entre los componentes que conducen a la apoptosis neuronal hay miembros de la SAPK/JNK, que son una subfamilia de las Cinasas MAP (MAPKs).

35 Las células de los mamíferos responden a algunos estímulos extracelulares activando cascadas de señales que son mediadas por diversas proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs). A pesar de las diferencias en su respuesta a estímulos corriente arriba, las cascadas de cinasas MAP se organizan de un modo similar, que consiste en MAP cinasa cinasa cinasas (MAPKKK o MEKK), MAP cinasa cinasas (MAPKK o MKK) y MAP cinasas (MAPK). Las MAP cinasas son una amplia familia de cinasas que incluye c-Jun cinasas N-terminales (JNKs), también conocidas como "proteínas cinasas activadas por estrés" (SAPKs), así como cinasas reguladas por señales extracelulares (ERKs) y MAP cinasas p38. Cada una de estas tres subfamilias de cinasas MAP está implicada en al menos tres rutas diferentes pero paralelas que transportan la información desencadenada por estímulos externos. La ruta de señales JNK es activada por la exposición de las células a estrés del entorno -tal como toxinas químicas, radiación, hipoxia y choque osmótico- así como por tratamiento de las células con factores de crecimiento o citocinas proinflamatorias -tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) o la interleucina 1-beta (IL-1 β).

45 Dos MAP cinasa cinasas (conocidas como MKKs o MAPKKs), es decir, MKK4 (conocida también como JNKK1) y MKK7 (conocida también como JNKK2), activan la JNK mediante una fosforilación dual de residuos de treonina y tirosina específicos situados dentro de un motivo Thr-Pro-Tyr en el bucle de activación en la enzima, en respuesta a citocinas y señales de estrés. Aún más corriente arriba en la cascada de señales, se sabe que la propia MKK4 es activada también por una MAP cinasa cinasa cinasa, MEKK1, mediante fosforilación en residuos de serina y treonina.
50

Una vez activada, la JNK se une a la región N-terminal de dianas de factores de transcripción, y fosforila los dominios de activación transcripcional dando como resultado la regulación en ascenso de la expresión de diversos productos génicos, lo que puede conducir a apoptosis, respuestas inflamatorias o procesos oncogénicos (1-5).

Las MAPKs (proteínas cinasas activadas por mitógenos) son cinasas de serina/treonina que son activadas por

fosforilación dual sobre residuos de treonina y tirosina. En las células de los mamíferos, hay al menos tres rutas independientes pero paralelas que transportan información generada por estímulos extracelulares a las MAPKs. Dichas rutas consisten en cascadas de cinasas que conducen a la activación de las ERKs (cinasas reguladas extracelularmente), las JNKs (c-Jun cinasas N-terminales), y las cinasas p38/CSBP. Aunque tanto las rutas JNK como p38 están implicadas en la transmisión de señales extramoleculares de tipo estrés, la ruta ERK es principalmente responsable de transducir señales mitogénicas/de diferenciación al núcleo de la célula.

Las cascadas SAPK representan una subfamilia de la familia de proteínas cinasas activadas por mitógenos, que son activadas por diferentes estímulos externos, que incluyen daño en el ADN después de irradiación UV, TNF- α , IL-1 β , ceramida, estrés celular, y especies de oxígeno reactivas, y tienen claras especificidades de sustrato. La transducción de señales mediante MKK4/JNK o MKK3/p38 da como resultado la fosforilación de factores de transcripción inducibles, c-Jun y ATF2, que actúan entonces bien como homodímeros o bien como heterodímeros para iniciar la transcripción de efectores corriente abajo.

La c-Jun es una proteína que forma homodímeros y heterodímeros (con, p.ej., c-Fos) para producir el complejo transactivador AP -que se requiere para la activación de muchos genes (p.ej., metaloproteinasas matriciales) implicados en la respuesta inflamatoria. Las JNKs fueron descubiertas cuando se encontró que varios estímulos diferentes, tales como la luz UV y el THF- α , estimulaban la fosforilación de c-Jun sobre residuos de serina específicos en el término N de la proteína.

Se han identificado tres enzimas JNK distintas como productos de los genes JNK1, JNK2 y JNK3, y se han identificado diez diferentes isoformas de JNK (3, 6, 7). La JNK1 y -2 se expresan de forma omnipresente en los tejidos humanos, mientras que la JNK3 se expresa selectivamente en el cerebro, corazón y testículos (7, 8, 9, 10). Cada isoforma se une a los sustratos con diferentes afinidades, sugiriendo, *in vivo*, una regulación específica de sustrato de las rutas de señales por las diferentes isoformas de la JNK.

En una reciente publicación de Xie, X. et al, (*Structure* 1998, 6(8); 983-991) se ha sugerido que se requiere la activación de rutas de transducción de señales activadas por estrés para la apoptosis neuronal inducida por retirada de NGF en células neuronales simpáticas de ganglios cervicales superiores (SCG) y PC-12 de ratas. La inhibición de cinasas específicas, a saber, MAP cinasa cinasa 3 (MKK3) y MAP cinasa cinasa 4 (MKK4), o c-Jun (parte de la cascada MKK-4) puede ser suficiente para bloquear la apoptosis (véase también Kumagai, Y. et al., en *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 67(1), 10-17, y Yang, DD. et al., en *Nature*, 1997, 389 (6653); 865-870). A las pocas horas de privación de NGF en neuronas SCG, la c-Jun se vuelve altamente fosforilada y los niveles de proteínas aumentan. De manera similar, en células PC-12 de rata privadas de NGF, la JNK y el p38 sufren una activación sostenida a la vez que las ERKs son inhibidas. Consistente con esto, ratones JNK3 KO son resistentes a apoptosis inducida por excitotoxicidad en el hipocampo, y, de manera más importante, muestran una gran reducción de ataques de tipo epiléptico en respuesta a la excitotoxicidad en comparación con animales normales (*Nature* 1997, 389, 865-870). Más recientemente, se ha reportado que la ruta de señales JNK está implicada en la proliferación celular, y podría jugar un importante papel en enfermedades autoinmunes (*Immunity*, 1998, 9, 575-585; *Current Biology*, 1999, 3, 116-125) que son mediadas por activación y proliferación de linfocitos T.

Los linfocitos T auxiliares (Th) CD4⁺ "naive" (precursores) reconocen complejos MHC-péptido específicos sobre células presentadoras de antígenos (APC) por medio del complejo receptor de linfocitos T (TCR). Además de la señal mediada por TCR, es proporcionada una señal co-estimuladora, al menos parcialmente, por la ligadura de CD28 expresado en linfocitos T con proteínas B7 sobre APC. La combinación de estas dos señales induce la expresión clonal de linfocitos T.

Después de 4-5 días de proliferación, el precursor de linfocitos T CD4⁺ se diferencia en linfocitos Th efectores armados que median en las funciones del sistema inmunitario. Durante el proceso de diferenciación, se produce una reprogramación sustancial de la expresión de genes.

Se han definido dos subconjuntos de linfocitos Th efectores en base a su distinto patrón de secreción de citocinas y sus efectos inmunomoduladores: los linfocitos Th1 producen IFN γ y LT (TNF- β), que se requieren para reacciones inflamatorias mediadas por células; los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y IL-13, que median en la activación y diferenciación de las células B. Estas células juegan un papel central en la respuesta inmune. La ruta de la MAP cinasa JNK es inducida en linfocitos efectores Th1 pero no en Th2 tras la estimulación por antígeno. Además, la diferenciación de células CD4⁺ precursoras en linfocitos efectores Th1 pero no Th2 es afectada en ratones deficientes en JNK2. Por lo tanto, en los últimos años se ha comprendido que la ruta de la cinasa JNK juega un importante papel en el equilibrio de la respuesta inmune de Th1 y Th2 mediante JNK2.

Algunos factores de transcripción que se sabe que son sustratos de JNK son las proteínas Jun (c-jun, JunB y JunD), los factores de transcripción relacionados ATF2 y ATFA, factores de transcripción Ets tales como Elk-1 y Sap-1, el supresor tumoral p53 y una proteína de dominio de muerte celular (DENN).

La activación de la ruta JNK ha sido documentada en varios procesos de enfermedad, proporcionando así una base lógica para seleccionar como objetivo esta ruta para el descubrimiento de fármacos. Además, métodos de genética molecular han validado el papel patogénico de esta ruta en varias enfermedades.

- 5 Por ejemplo, las enfermedades autoinmunes e inflamatorias derivan de la activación inapropiada del sistema inmunitario. Las células inmunes activadas expresan muchos genes que codifican moléculas inflamatorias, que incluyen citocinas, factores de crecimiento, receptores superficiales celulares, moléculas de adhesión celular y enzimas degradativas. Se sabe que muchos de estos genes son regulados por la ruta JNK, mediante la activación de los factores de transcripción c-Jun y ATF-2.
- La inhibición de la activación de JNK en macrófagos bacterianos estimulados por lipopolisacáridos modula de manera efectiva la producción de la citocina proinflamatoria clave, TNF α **(11)**.
- 10 La inhibición de la activación de JNK disminuye la activación de factores de transcripción, responsable de la expresión inducible de metaloproteinasas matriciales (MMPs) **(12)**, de las que se sabe que son responsables de la promoción de erosión de cartílagos y huesos en la artritis reumatoide y de destrucción generalizada de tejidos en otras enfermedades autoinmunes.
- 15 La cascada JNK también es activada en los linfocitos T por estimulación por antígenos y co-estimulación del receptor CD28 **(13)** y regula la producción de del promotor de IL-2 **(14)**. Una activación inapropiada de los linfocitos T inicia y perpetúa muchas enfermedades autoinmunes, que incluyen asma, síndrome inflamatorio del intestino y esclerosis múltiple.
- 20 En neuronas vulnerables a daño por enfermedad de Alzheimer y en neuronas CA1 de pacientes con hipoxia aguda **(15)**, la proteína JNK3 está altamente expresada. También se encontró que el gen JNK3 está expresado en las regiones dañadas de los cerebros de pacientes de Alzheimer **(16)**. Además, se encontró que las neuronas de ratones JNK3 KO se volvieron resistentes a la apoptosis inducida por ácido kaínico en comparación con neuronas de ratones de tipo salvaje **(8)**.
- En base a estos hallazgos, se cree que la ruta de señales JNK, y especialmente la de JNK2 y JNK3, está implicada en enfermedades neurodegenerativas dirigidas por apoptosis tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, epilepsia y apoplejías, enfermedad de Huntington, lesiones cerebrales traumáticas, así como ataques isquémicos y hemorrágicos.
- 25 Las enfermedades cardiovasculares, tales como aterosclerosis y restenosis, resultan de una regulación defectuosa del crecimiento de la pared de los vasos sanguíneos. La ruta JNK es activada por estímulos aterogénicos, y regula la producción local de citocinas y factores de crecimiento en las células vasculares **(17, 18)** induciendo el gen proaterosclerótico **(19)**.
- 30 La isquemia, sola o acoplada con reperfusión en el corazón, hígado, riñón o cerebro, da como resultado la muerte celular y formación de cicatrices, lo que puede conducir en último extremo a fallo cardíaco congestivo, trastornos hepáticos, fallo renal o disfunción cerebral. La ruta JNK es activada por la isquemia y la reperfusión en el corazón **(20)**, conduciendo a la activación de genes responsables de la JNK y a daño tisular mediado por leucocitos. También se observa activación de la JNK en el riñón **(21)** o el hígado **(22)** después de isquemia y reperfusión. Se ha demostrado que la regulación en descenso de JNKs mejora la función renal y el resultado a largo plazo durante el fallo renal nefrítico e isquémico **(23)**.
- 35 El cáncer se caracteriza por un crecimiento, proliferación y migración incontrolados de las células. En el cáncer de pulmón temprano, la expresión de c-jun está alterada y puede mediar en la señalización de factores de crecimiento en el cáncer de pulmón de células pequeñas **(24)**. Además de regular la producción y actividad de la c-jun, la activación de la JNK puede regular la fosforilación del p53, y por tanto puede modular la progresión del ciclo celular **(25)**. Además, el papel de la activación de JNK en la tumorigénesis mediada por HTLV-1 (virus de leucemia de linfocitos T humanos de tipo 1) **(26)** sugiere el uso potencial de inhibidores de JNK en el tratamiento del cáncer **(27)**. La inhibición selectiva de la activación de JNK mediante una proteína inhibitoria de JNK existente en la naturaleza, llamada proteína interactuante con JNK 1 (JIP-1), bloquea la transformación celular **(28)**. Por tanto, los inhibidores de JNK pueden bloquear la transformación y el crecimiento de células tumorales.
- 45 Con el objetivo de inhibir la ruta de la cinasa JNK, la solicitud de patente internacional WO/9849188 muestra el uso de un polipéptido humano, es decir, proteína 1 interactuante con JNK 1 (JIP-1), que es un producto biológico y que también ha sido ensayado para vencer trastornos relacionados con la apoptosis.
- Aunque se ha confirmado que tales polipéptidos humanos tienen un efecto inhibitorio sobre la ruta de la cinasa JNK, están asociados con su uso una amplia variedad de inconvenientes:
- 50
- Los bio-péptidos o bio-proteínas activos se obtienen sólo por medio de una biosíntesis bastante exhaustiva y cara, lo que, por consiguiente, hace frecuentemente a los productos resultantes muy costosos.
 - Se sabe que los péptidos muestran una pobre penetración en la membrana, y puede que no crucen la membrana sangre-cerebro.
 - El principal inconveniente para el uso de inhibidores o antagonistas peptídicos es el problema de su baja biodisponibilidad oral, que resulta de la degradación intestinal. Por ello, deben ser administrados por vía
- 55

parenteral, y, finalmente,

- Los inhibidores o antagonistas peptídicos son vistos frecuentemente por el cuerpo del huésped como un material intruso a ser eliminado, desencadenando así una respuesta autoinmune.

5 La alta relevancia de la ruta JNK en algunas enfermedades ampliamente extendidas acentúa la necesidad de desarrollar inhibidores, preferentemente selectivos, de las JNKs.

Es por lo tanto un objetivo de la presente invención proporcionar moléculas que sean adecuadas para el tratamiento de diversas enfermedades, en particular de trastornos neuronales o relacionados con el sistema autoinmune, cáncer, dolencias isquémicas y enfermedades cardiovasculares.

10 Es en particular un objetivo de la presente invención proporcionar compuestos químicos que puedan modular, preferiblemente regular en descenso o inhibir, la ruta JNK (Jun cinasa) para que sean útiles en métodos de tratamiento de enfermedades que impliquen la ruta JNK.

Además, es un objetivo de la presente invención proporcionar métodos para preparar dichos compuestos químicos. Es además un objetivo de la presente invención proporcionar una nueva categoría de formulaciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades, en particular las mediadas por la función de JNK.

15 Es finalmente un objetivo de la presente invención proporcionar un método para el tratamiento y/o prevención de enfermedades que son causadas por trastornos del sistema autoinmune y/o neuronal.

Descripción de la invención

20 Los objetivos mencionados anteriormente han sido cumplidos según las reivindicaciones independientes. Las realizaciones preferidas se exponen dentro de las reivindicaciones dependientes que se incorporan con la presente memoria.

Los siguientes párrafos proporcionan definiciones de los diversos restos químicos que constituyen los compuestos acordes con la invención, y pretenden aplicarse de manera uniforme en toda la memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que una definición expuesta expresamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

25 "Alquilo C₁-C₆" se refiere a grupos alquilo monovalentes que tienen 1 a 6 átomos de carbono. Este término es ejemplificado por grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-hexilo.

"Ariilo" se refiere a fenilo.

30 "Alquenilo" se refiere a grupos alquenilo que tienen preferiblemente de 2 a 6 átomos de carbono, y que tienen al menos 1 o 2 sitios de insaturación alquenilica. Los grupos alquenilo preferibles incluyen etenilo (-CH=CH₂), n-2-propenilo (alilo, -CH₂CH=CH₂). "Alcoxi" se refiere al grupo O-R, donde R es "alquilo C₁-C₆". Los grupos alcoxi preferidos incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi.

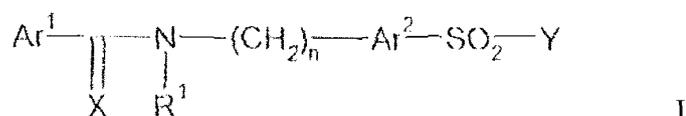
"Halógeno" se refiere a átomos de flúor, cloro, bromo y yodo.

"Sulfonilo" se refiere al grupo "-SO₂-R", en donde R se selecciona de H, "arilo", "alquilo C₁-C₆", "alquilo C₁-C₆" sustituido con halógenos, p.ej., un grupo -SO₂CF₃, "alquil-C₁-C₆-arilo".

35 "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales de los compuestos de la fórmula I identificados más delante que retienen la actividad biológica deseada. Los ejemplos de tales sales incluyen, pero no están restringidos a, sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos (p.ej., ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico), y sales formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, 40 ácido pamoico, ácido algínico, ácido poliglútamico, ácido naftalensulfónico y ácido poligalacturónico. Dichos compuestos también pueden ser administrados como sales cuaternarias farmacéuticamente aceptables conocidas por un experto en la técnica, que incluyen específicamente las sales de amonio cuaternario de la fórmula -NR₄⁺Z⁻, en donde R, R', R'' es independientemente hidrógeno, alquilo o bencilo, y Z es un contraión, que incluye cloruro, bromuro, yoduro, -O-alquilo, toluenosulfonato, metilsulfonato, sulfonato, fosfato o carboxilato (tal como benzoato, 45 succinato, acetato, glicolato, maleato, malato, fumarato, citrato, tartrato, ascorbato, cinamoato, mandeloato y difenilacetato). Los ejemplos de sales de adición de base incluyen las derivadas de hidróxido de sodio, potasio, amonio y amonio cuaternario, tales como, por ejemplo, hidróxido de tetrametilamonio.

50 "Grupo hidrófilo" se refiere a grupos funcionales que tienen una pronunciada atracción a grupos, sustituyentes o compuestos hidrófilos o polares, o compuestos o restos grasos. "Exceso enantiomérico" (ee) se refiere a los productos que se obtienen mediante una síntesis esencialmente enantiomérica o una síntesis que comprende una etapa enantioselectiva, por la cual se obtiene un sobrante de un enantiómero en el orden de al menos aproximadamente 52% de ee. En ausencia de una síntesis enantiomérica, se obtienen usualmente productos racémicos que no obstante sí tienen también la actividad inventiva expuesta como inhibidores de JunCinasas.

Un aspecto de la presente invención consiste en derivados de sulfonamida acordes con la fórmula I:



Los compuestos de la fórmula I acordes con la presente invención que son agentes farmacéuticos adecuados son aquellos en los que

5 Ar¹ es un fenilo opcionalmente sustituido por -OR, en donde R es alquilo C₁-C₆;

Ar² es un grupo tienilo que lleva al menos un sustituyente hidrófilo, en donde el sustituyente hidrófilo es -COOR³, -CONR³R³, OH, alquilo C₁-C₄ sustituido con OH o un grupo amino, un grupo hidrazido-carbonilo, un sulfato, un sulfonato, una amina o una sal de amonio;

X es O o S, preferiblemente O;

10 R¹ es hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆;

n es un número entero de 1-3 y, lo más preferido, 1.

Y es un resto de piperidina según la fórmula siguiente



15 En dicho grupo piperidina, L¹ y L² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, -NR³R³, -NR³C(O)R³, -NR³C(O)R³R³, -(SO)R³, -(SO₂)R³, -NSO₂R³, -SO₂NR³R³.

En los mismos, R³ y R³ son sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, arilo que es fenilo, aril-alquilo C₁-C₆ que es fenil-alquilo-C₁-C₆, R⁶ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, OH, halógeno, nitro, ciano, sulfonilo, oxo (=O), y n es un número entero de 0 a 4, preferiblemente 1 o 2.

20 Todos los grupos arilo mencionados anteriormente podrían estar sustituidos opcionalmente por al menos uno de los grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, nitro, sulfonilo.

La presente invención también incluye los isómeros geométricos, las formas ópticas activas, enantiómeros, diastereómeros de los compuestos acordes con la fórmula I, así como sus racematos y también sales farmacéuticamente aceptables de los derivados de sulfonamida de la fórmula I.

25 Ar¹ en la fórmula I son aquellos que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en fenilo, opcionalmente sustituido por alcoxi C₁-C₆, Ar² es un grupo tienilo con al menos uno, preferiblemente un sustituyente hidrófilo seleccionado de -COOR³, -CONR³R³, OH, alquilo C₁-C₄ sustituido con OH o un grupo amino, un grupo hidrazidocarbonilo, un sulfato, un sulfonato, una amina o una sal de amonio.

30 Son sulfonamidas particularmente preferidas aquellas en las que Ar¹ es un grupo fenilo, X es O, R¹ es hidrógeno, n es 1, Ar² es un grupo tienilo con un sustituyente hidrófilo seleccionado de -COOR³, -CONR³R³, OH, alquilo C₁-C₄ sustituido con OH o un grupo amino, un grupo hidrazido-carbonilo, un sulfato, un sulfonato, una amina o una sal de amonio. Dichos grupos arilo podrían estar sustituidos opcionalmente por halógeno, hidroxilo, nitro, sulfonilo.

Los ejemplos específicos de compuestos de fórmula I incluyen los siguientes:

35 Ácido 5-[[[(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]anilino}-piperidin-1-il)sulfonil]tiofeno-3-carboxílico

Ácido 5-[[[(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[4-(octilamino)piperidin-1-il]sulfonil]-tiofeno-3-carboxílico

N-(2-hidroxietyl)-5-[[[(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]anilino}piperidin-1-il)sulfonil]tiofeno-3-carboxamida

N-[(4-(hidrazinocarbonil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]anilino}piperidin-1-il)sulfonil]tien-2-il)metil]-3-

metoxibenzamida

5-[[3-(metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}-piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida

N-[2-(dimetilamino)etil]-5-[[3-(metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida

5 N-((4-(hidroximetil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tien-2-il)metil)-3-metoxibenzamida

Ácido 2-[[4-(hexilamino)-1-piperidinil]sulfonyl]-5-[[3-(metoxibenzoil)amino]metil]-3-tiofenocarboxílico

Ácido 5-[[3-(metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{4-(trifluorometil)bencil]amino}-1-piperidinil)sulfonyl]-3-tiofenocarboxílico.

10 Los compuestos de la fórmula I son adecuados para el uso en el tratamiento de trastornos del sistema inmunitario y del sistema neuronal de los mamíferos, en particular de seres humanos. Tales trastornos del sistema neuronal incluyen, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas, p.ej., enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedades retinales, lesión de la médula espinal, esclerosis múltiple, trauma en la cabeza, epilepsia y apoplejías, ataques cerebrales isquémicos y hemorrágicos. Los trastornos del sistema inmunitario incluyen, por ejemplo, asma, rechazo a trasplantes, procesos inflamatorios tales como

15 enfermedad inflamatoria del intestino (IBD, por sus siglas en inglés), trastornos de erosión de cartílagos y huesos, artritis reumatoide, choque séptico.

Los compuestos acordes con la fórmula I son también adecuados para el uso en el tratamiento de cánceres, tales como cánceres de mama, colorrectal, pancreático, de próstata, testicular, ovárico, de pulmón, de hígado y de riñón.

20 En otra realización, los compuestos acordes con la fórmula I se pueden usar para tratar enfermedades cardiovasculares que incluyen aterosclerosis, restenosis, apoplejía, isquemia, p.ej., isquemia cerebral, infarto de miocardio.

En otra realización, los compuestos acordes con la fórmula I se pueden usar para tratar diversas dolencias isquémicas, que incluyen fallos cardíacos y renales, trastornos hepáticos y lesiones de reperfusión cerebral.

25 Preferiblemente, los compuestos acordes con la fórmula I, solos o en la forma de una composición farmacéutica, son útiles para la modulación de la ruta JNK, más específicamente para el tratamiento o prevención de trastornos asociados con la expresión o actividad de la JNK, en particular JNK2 y -3. Dicha modulación, usualmente, implica preferiblemente la inhibición de las rutas JNK, en particular de la JNK2 y/o 3. Tal expresión o actividad anormal de la JNK puede ser provocada por numerosos estímulos (p.ej., estrés, choque séptico, estrés oxidativo, citocinas) y puede causar una cascada de procesos, que conducen a, por ejemplo, apoptosis incontrolada, respuestas

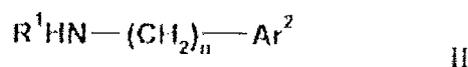
30 inflamatorias o procesos oncogénicos. Estos fenómenos están implicados frecuentemente en diversos trastornos, que incluyen los trastornos y estados de enfermedad enumerados anteriormente. Por ello, los compuestos acordes con la invención se pueden usar para el tratamiento de trastornos modulando la función o rutas de señales de las JNK. La modulación de la función o rutas de las JNK puede implicar su activación, pero preferiblemente implica la regulación en descenso, hasta la inhibición, de las rutas de las JNK, en particular de JNK1 y /o -2 y/o JNK3. Los

35 compuestos de la invención se pueden emplear solos o en combinación con agentes farmacéuticos adicionales, p.ej., con un modulador de JNK adicional.

Otro objeto adicional de la presente invención es un procedimiento para preparar los nuevos derivados de sulfonamida acordes con la fórmula I que han sido expuestos anteriormente. Los derivados de sulfonamida de esta invención se pueden preparar a partir de materiales de partida fácilmente obtenibles usando los siguientes métodos

40 y procedimientos generales. Se apreciará que donde se dan condiciones experimentales típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempo, moles de reactivos, disolventes), también se pueden usar otras condiciones experimentales, a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reaccionantes o disolventes particulares usados, pero tales condiciones pueden ser determinadas por un experto en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinarios.

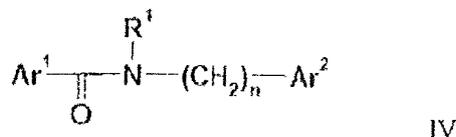
45 En un método de síntesis preferido, los derivados de sulfonamida de la invención se preparan acoplado primero una amina de la fórmula II:



donde Ar^2 y R^1 son como se definieron anteriormente, con un cloruro de acilo de la fórmula III:



donde AR¹ es como se definió anteriormente, para proporcionar una amida de la fórmula IV:



Las aminas de la fórmula II o bien son compuestos conocidos o bien se pueden preparar a partir de compuestos conocidos por procedimientos convencionales. Las aminas preferidas como materiales de partida incluyen tien-2-ilmetilamina.

Los cloruros de acilo de la fórmula III son también compuestos disponibles en el mercado o descritos previamente. Los cloruros de acilo preferidos incluyen cloruro de 3-metoxi-benzoilo. Si no se conoce, el haluro de ácido se puede preparar haciendo reaccionar el ácido carboxílico correspondiente con un haluro de ácido inorgánico, tal como cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo o cloruro de oxalilo bajo condiciones convencionales.

De manera general, esta reacción se realiza usando aproximadamente 1 a 5 equivalentes molares del haluro de ácido inorgánico o cloruro de oxalilo, bien en forma pura o bien en un disolvente inerte, tal como tetracloruro de carbono, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 0°C a aproximadamente 80°C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 48 horas. También se puede usar en esta reacción un catalizador, tal como N,N-dimetilformamida.

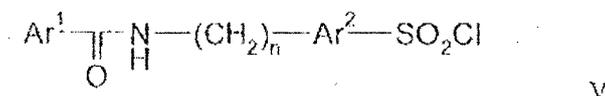
Cuando se emplea un haluro de acilo en la reacción de acoplamiento, se hace reaccionar típicamente con la amina II en presencia de una base adecuada para eliminar el ácido generado durante la reacción. Las bases adecuadas incluyen, a modo de ejemplo, trietilamina, diisopropilamina, N-metilmorfolina. Alternativamente, se puede usar un exceso de la amina II para eliminar el ácido generado durante la reacción.

Alternativamente, se puede emplear el ácido carboxílico del compuesto III en la reacción de acoplamiento. El ácido carboxílico de III son reactivos usualmente disponibles en el mercado o se pueden preparar por procedimientos convencionales.

La reacción de acoplamiento del ácido carboxílico de III (es decir, el cloruro de acilo) se realiza con el uso de cualquier reactivo de acoplamiento convencional, que incluye, por ejemplo, carbodiimidias tales como dicitohexilcarbodiimida, N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida y otros agentes promotores, tales como N,N-carbonil-diimidazol o PyBOP. Esta reacción se puede realizar con o sin el uso de aditivos bien conocidos, tales como N-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, de los que se sabe que facilitan el acoplamiento de ácidos carboxílicos y aminas.

La reacción de acoplamiento, usando bien el haluro de ácido III o bien su ácido carboxílico, se realiza preferiblemente a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 6°C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas. Por regla general, la reacción se realiza en un disolvente polar aprótico inerte tal como N,N-dimetilformamida, diclorometano, cloroformo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, usando aproximadamente 1 a aproximadamente 5 equivalentes molares de la amina en base al ácido carboxílico o su haluro de ácido. Tras completarse la reacción, la carboxamida IV se recupera por métodos convencionales, que incluyen precipitación, cromatografía, filtración, destilación.

Los cloruros de sulfonilo de la fórmula V necesarios para la preparación de las sulfonilpiperidinas o piperazinas de la fórmula I se preparan usando métodos de sulfonación convencionales:



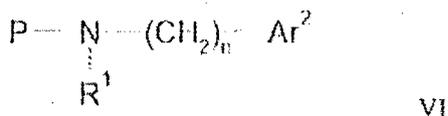
Un reactivo de sulfonación preferido para el uso en esta reacción es el ácido clorosulfónico. Por regla general, la reacción de sulfonación se lleva a cabo tratando la carboxamida de la fórmula (IV) con aproximadamente 5 a aproximadamente 10 equivalentes molares del reactivo de sulfonación en un disolvente inerte, tal como diclorometano, a una temperatura que oscila de aproximadamente -70°C a aproximadamente 50°C. Preferiblemente, la adición de ácido clorosulfónico tiene lugar a -70°C, y conduce a la formación del ácido sulfónico intermedio. Aumentar la temperatura a 20°C permite la formación del cloruro de sulfonilo de la fórmula V.

Según un método de preparación preferido adicional, en particular en el caso de que el método señalado anteriormente que conduce a la síntesis preliminar del cloruro de sulfonilo de la fórmula V no sea aplicable, las sulfonilpiperidinas y piperazinas de esta invención se preparan por las siguientes etapas:

- Protección de la función amina de los compuestos de la fórmula II;

- Clorosulfonación del grupo aromático;
- Formación de la función sulfonamida;
- Desprotección del grupo protector;
- Acilación de la amina libre generada anteriormente;

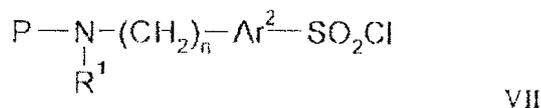
5 Las aminas de la fórmula II se protegen con un grupo protector adecuado de un resto amina, para proporcionar el compuesto intermedio de la fórmula VI, en la que P denota el grupo protector.



10 Se describen bien numerosos grupos protectores P de la función amina, así como su introducción y retirada, en T. W. Greene y G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Tercera Edición, Wiley, Nueva York, 1998, y en las referencias citadas en el mismo. Se prefieren grupos protectores que son ácidos y bases estables, y pueden ser retirados además usando complejos de transición tales como complejos de paladio, por ejemplo el grupo alilcarbamato (Alloc) o el grupo N,N'-bisalilo. Otro grupo protector preferido es el grupo maleimida, que es estable en todos los intervalos de condiciones experimentales.

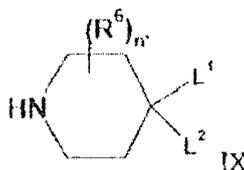
15 La introducción de dichos grupos se puede realizar haciendo reaccionar el correspondiente anhídrido de bisalilcarbonato o alilbromuro o anhídrido maleico en presencia de una base tal como trietilamina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, en un disolvente aprótico tal como N,N-dimetilformamida, diclorometano, cloroformo, acetonitrilo, tetrahidrofurano, a una temperatura que oscila de aproximadamente 0°C a aproximadamente 80°C.

20 Los compuestos de la fórmula VI son sulfonados después usando un procedimiento de sulfonación convencional muy suave, que permite la obtención del cloruro de sulfonilo de la fórmula VII.



25 Por regla general, la amina protegida VI se trata con una base tal como n-butil-litio o terc-butil-litio en una atmósfera inerte, en un disolvente aprótico polar tal como tetrahidrofurano, éter o dioxano, a una temperatura que oscila de -70°C a 0°C, durante un tiempo que oscila de 15 minutos a 4 horas. El anión así formado se trata después con SO₂Cl₂ o, lo más preferiblemente, SO₂, burbujeando el gas en la mezcla de reacción a una temperatura que oscila de -70°C a 20°C durante un tiempo que oscila de 5 minutos a 1 hora. El sulfonato obtenido se transforma después "in situ" en el cloruro de sulfonilo de la fórmula VII poniéndolo en contacto con N-clorosuccinimida a una temperatura que oscila de 0°C a 70°C.

30 Los derivados de sulfonamida de la fórmula I se preparan después a partir del correspondiente cloruro de sulfonilo V o VII mencionado anteriormente, por reacción con una amina cíclica correspondiente, p.ej., un derivado de piperidina de la fórmula general IX.



en la que L¹ y L² son como se definieron anteriormente.

35 Las aminas de la fórmula IX son o bien compuestos disponibles en el mercado o bien compuestos que se pueden preparar por procedimientos conocidos.

La reacción se realiza, de manera general, en presencia de una base tal como trietilamina, diisopropiletilamina, carbonato de potasio, en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona, etanol, acetonitrilo, a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C.

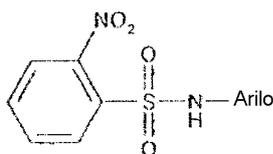
40 Las sulfonamidas de la fórmula I se preparan fácilmente a partir del correspondiente cloruro de sulfonilo V o VII, por reacción con una piperidina de la fórmula general IX.

Las piperidinas de la fórmula IX son o bien compuestos disponibles en el mercado o bien compuestos que se pueden preparar por procedimientos conocidos.

Por regla general, las piperidinas del tipo IX se pueden preparar usando métodos convencionales conocidos por un experto en la técnica, y descritos a modo de ejemplos en *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 1316; *J. Heterocyclic. Chem.*, **1986**, *23*, 73; *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1297, patente de EE.UU. 5106983, solicitudes de patente internacional WO/9113872 y WO/9606609.

Los métodos preferidos de obtención de las piperidinas de la fórmula IX son los siguientes:

Un método en el caso en que $n = 0$ es un acoplamiento de tipo "Mitsunobu" entre una anilina activada del tipo XII con 4-piperidol mono-N-prottegido, como se describe en *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373-6374.



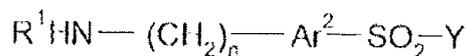
XII

La desprotección del grupo sulfamino se lleva a cabo después usando tiofenol en presencia de carbonato de potasio.

Para $L^2 = -NR^3C(O)R^3$, $-NR^3C(O)NR^3R^3$, $NR^3SO^2-R^3$, un método preferido de síntesis de los compuestos de la fórmula IX es la reacción de N-BOC-4-aminopiperidina, disponible en el mercado, con, respectivamente, cloruros de acilo, isocianatos y cloruro de sulfonilo bajo condiciones clásicas muy bien conocidas por un experto en la técnica.

Las sulfonamidas de la fórmula I se preparan fácilmente poniendo en contacto el cloruro de sulfonilo V con una amina de la fórmula IX en presencia de una base adecuada para eliminar el ácido generado durante la reacción. Las bases adecuadas incluyen, a modo de ejemplos, trietilamina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina. La reacción se realiza preferiblemente en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona, etanol, acetonitrilo, a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C.

Las sulfonamidas de la fórmula XIV se preparan fácilmente poniendo en contacto el cloruro de sulfonilo VII con una amina de la fórmula IX en presencia de una base adecuada para eliminar el ácido generado durante la reacción. Las bases adecuadas incluyen, a modo de ejemplos, trietilamina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina. La reacción se realiza preferiblemente en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona, etanol, acetonitrilo, a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C. El uso de cloruro de sulfonilo de tipo VII conduce a aminas que tienen que ser desprotegidas usando métodos bien conocidos por un experto en la técnica para proporcionar la amina de la fórmula general XIV



XIV

en la que R^1 , Ar^2 , Y y n son como se definieron anteriormente.

Los derivados de tipo XIV son acilados después según métodos descritos para la preparación de amidas por condensación de aminas con cloruros de ácido o ácidos carboxílicos en las condiciones preferidas descritas anteriormente, que conducen a los compuestos de la fórmula general I.

Si los métodos de síntesis generales expuestos anteriormente no son aplicables para la obtención de los compuestos de la fórmula I, se deben usar métodos de preparación adecuados conocidos por un experto en la técnica. Por ejemplo, cuando Ar^2 es fenilo, se debe partir de cloruro de 4-cianofenilsulfonilo, disponible en el mercado, y aplicar métodos convencionales conocidos por un experto en la técnica para alcanzar los derivados de sulfonamida de la fórmula I.

Un aspecto final de la presente invención se refiere al uso de los compuestos acordes con la fórmula I para la modulación de la función o las rutas de señales de las JNK, al uso de dichos compuestos para la preparación de composiciones farmacéuticas para la modulación de las rutas JNK, así como las formulaciones que contienen los compuestos activos acordes con la fórmula I. Dicha modulación de la ruta JNK es vista como un método adecuado de tratamiento para diversos trastornos. Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los derivados de sulfonamida de la presente invención se administran típicamente en la forma de una composición farmacéutica. Por ello, las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la fórmula I y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable están también, por lo tanto, dentro del alcance de la presente invención. Un experto en la técnica conoce una amplia variedad de tales vehículos, diluyentes o excipientes adecuados para

formular una composición farmacéutica. También, la presente invención proporciona compuestos para uso como medicamento. En particular, la invención proporciona los compuestos de la fórmula I para uso como inhibidor de las JNK, en particular de JNK3, para el tratamiento de trastornos del sistema inmunitario, así como neuronal, de los mamíferos, en particular de seres humanos, bien solos o bien en combinación con otros medicamentos.

5 Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente empleado convencionalmente, se pueden poner en la forma de composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias de las mismas, y en tal forma se puede emplear como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas rellenas, o líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires, o cápsulas rellenas con los mismos, todos para uso oral, o en la forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluyendo subcutáneo). Tales composiciones
10 farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden comprender ingredientes en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz del ingrediente activo acorde con el intervalo de dosificación diaria pretendido a ser empleado.

15 Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los derivados de sulfonamida de esta invención se administran típicamente en la forma de una composición farmacéutica. Tales composiciones se pueden preparar de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y comprenden al menos un compuesto activo. De manera general, los compuestos de esta invención se administran en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La cantidad del compuesto administrada realmente será determinada típicamente por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, que incluyen la dolencia a ser tratada, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso
20 y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente.

Las composiciones farmacéuticas de estas invenciones se pueden administrar por diversas rutas, que incluyen oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la ruta de entrega pretendida, los compuestos se formulan preferiblemente bien como composiciones inyectables o bien orales. Las composiciones para administración oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas a granel, o
25 polvos a granel. Más comúnmente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de dosificación unitaria para facilitar una dosificación precisa. El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para pacientes humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de dosificación unitaria típicas incluyen ampollas o jeringas prerellenadas, premedidas, de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas en el caso de composiciones sólidas. En tales composiciones, el compuesto de sulfonamida es usualmente un componente minoritario (de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50% en peso o preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 40% en peso) siendo el resto diversos vehículos o excipientes y auxiliares de proceso útiles para formar la forma de dosificación deseada.

35 Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con amortiguadores de pH, agentes de suspensión y dispensación, colorantes, aromas. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido alginico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

Las composiciones inyectables están basadas típicamente en suero salino estéril inyectable o suero salino tamponado con fosfato u otros excipientes inyectables conocidos en la técnica. Como se mencionó anteriormente, el compuesto de sulfonamida de la fórmula I en tales composiciones es típicamente un componente minoritario, que
45 oscila frecuentemente entre 0,05 y 10% en peso, siendo el resto el vehículo inyectable.

Los componentes descritos anteriormente para composiciones inyectables o administradas por vía oral son meramente representativos. Se exponen materiales adicionales, así como técnicas de procesamiento, en la Parte 8 de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª edición, 1985, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, que se incorpora en la presente memoria por referencia.

50 Los compuestos de esta invención también se pueden administrar en formas de liberación sostenida o a partir de sistemas de entrega de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos también se puede encontrar en los materiales mencionados en *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

55 En lo que sigue, la presente invención será ilustrada por medio de algunos ejemplos que no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención. Los datos de HPLC, NMR y MS proporcionados en los ejemplos descritos a continuación se obtuvieron como sigue. Las siguientes abreviaturas se usan en adelante en los ejemplos acompañantes: min (minuto), h (hora), g (gramo), mmol (milimoles), p.f. (punto de fusión), eq (equivalentes), ml (mililitros), μ l (microlitros), ACN (acetonitrilo), Boc (butoxicarbonilo), CDCl₃ (cloroformo deuterado), cHex (ciclohexanos), DCM (diclorometano), DECP (cianofosfonato de dietilo), DIC (diisopropilcarbodiimida), DMAP (4-

dimetilaminopiridina), DMF (dimetilformamida), DMSO (dimetilsulfóxido), DMSO- d_6 (dimetilsulfóxido deuterado), EDC (1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodiimida), EtOAc (acetato de etilo), Et₂O (éter dietílico), Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonilo), HOBt (1-hidroxibenzotriazol), K₂CO₃ (carbonato de potasio), NaH (hidruro de sodio), NaHCO₃ (bicarbonato de sodio), nBuLi (n-butil-litio), TBTU (tetrafluoroborato de O-benzotriazolil-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio), TEA (trietilamina), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano), TMOF (ortoformiato de trimetilo), MgSO₄ (sulfato de magnesio), PetEther (éter de petróleo), t.a. (temperatura ambiente).

Ejemplos

Ejemplo 1: Ácido 5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]anilino}-piperidin-1-il)sulfonil]tiofeno-3-carboxílico (1)

10 Dialil-tiofen-2-ilmetilamina (1a)

Una disolución de 2-aminometiltiofeno (51,4 g, 956 mmol) y *i*-Pr₂NEt (140 g, 1081 mmol) en CH₂Cl₂ (1 l) se puso en un matraz de 3 l equipado con un condensador y una agitación magnética eficaz. Se añadió bromuro de alilo (115,7 g, 454 mmol), después de lo cual la reacción moderadamente exotérmica alcanzó espontáneamente la temperatura de reflujo después de 2 h. La mezcla se agitó durante una noche (16 h), se lavó (NaHCO₃ sat.; salmuera) se secó (MgSO₄), y se concentró. El aceite resultante se filtró sobre gel de sílice (EtOAc:hexano 1:4). El filtrado se concentró y la filtración se repitió para dar 70,3 g (80%) de la dialilamina del título como un aceite marrón-amarillo, limpio por NMR. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,25 (d a, *J* = 5,9 Hz, 1H), 6,98 (dd a, *J* = 5,1, 2,8 Hz, 1H), 6,94-6,92 (m, 1H), 5,99-5,86 (m, 2H), 5,29-5,18 (m, 4H), 3,85 (s, 2H), 3,16 (dd, *J* = 6,3, 0,9 Hz, 4H).

Cloruro de 5-dialilaminometil-tiofeno-2-sulfonilo (1b)

20 Una disolución del tiofeno protegido con alilo (1a) (6,2 g, 32,1 mmol) en Et₂O se enfrió a -70°C por medio de un baño de acetona/hielo seco. Se añadió una disolución de *t*-BuLi en pentano (21,38 ml, 1,5 M, 32,1 mmol) a lo largo de 2 min, después de lo cual la temperatura interna se elevó momentáneamente a -50°C y la mezcla se volvió naranja. Después de 10 min, se burbujeó SO₂ durante 2 min, lo que condujo a la inmediata formación de un precipitado espeso. Se dejó que la reacción alcanzara 0°C, y se añadió una suspensión de NCS (4,63 g, 32,1 mmol) en THF (20 ml), después de lo cual la suspensión se volvió púrpura. Después de 45 min a t.a., la mezcla se filtró sobre SiO₂, eluyendo con EtOAc. La evaporación, dilución con EtOAc:hexano 1:5 y filtración sobre SiO₂ dio 5,0 g (53%) del cloruro de sulfonilo del título (1b) como un aceite marrón pálido, que se usó sin purificación adicional.

N,N-Dialil-N-{5-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ilsulfonil)tien-2-il}metil}amina (1c)

30 Procedimiento A (a partir del cloruro de sulfonilo (1b) aislado). Una disolución de (1b) (5,84 g, 20 mmol) en CHCl₃ se enfrió a 0°C, y se trató con 1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]decano (2,8 ml, 22 mmol) y Et₃N (4,1 ml, 30 mmol), y se calentó a 23°C durante 10 min. La dilución con EtOAc (100 ml), tratamiento estándar (NaHCO₃ sat.; salmuera, MgSO₄) y cromatografía (EtOAc:ciclohexano 1:2) dio 7,57 g (95%) de la sulfonamida del título como un aceite incoloro.

35 Procedimiento B (a partir de (1a), sin aislamiento del cloruro de sulfonilo (1b)). Se puso una disolución del tiofeno protegido con alilo (1a) (29,1 g, 150 mmol) en Et₂O (440 g, 617 ml) en un matraz de tres cuellos de 1 l (termómetro; argón; septum o entrada de SO₂) y se enfrió a -74°C por medio de un baño de acetona/hielo seco. Se añadió una disolución de *t*-BuLi en pentano (100 ml, 1,5 M, 150 mmol) a lo largo de 5 min, después de lo cual la temperatura interna se elevó momentáneamente a -64°C y la mezcla se volvió rosa. Después de 20 min, se burbujeó SO₂ (20 g, 312 mmol) a lo largo de 15 min. El consumo de SO₂ se controló mejor poniendo la botella de SO₂ en una balanza durante la reacción. La mezcla de reacción, que se había convertido en una cera blanca, espesa, se dejó calentar hasta la temperatura ambiente a lo largo de 2 h. Se añadió una suspensión de NCS (30 g, 226 mmol), y se continuó la agitación durante una noche, después de lo cual la suspensión se volvió púrpura. Se filtró la mezcla (vidrio fritado), y el precipitado se lavó cuidadosamente con CH₂Cl₂ (2 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se enfriaron a 0°C en atmósfera de Ar, y se trataron con una disolución de 1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]decano (27,8 g, 194 mmol) y trietilamina (19,7 g, 194 mmol) en C₂HCl₂ (200 ml). Después de 1 h, la mezcla se lavó (NaHCO₃ sat.; salmuera) se secó (MgSO₄), y se concentró para dar 53 g (83%) de la sulfonamida del título como un aceite amarillo: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,36 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 6,90 (d a, *J* = 3,4 Hz, 1H), 5,92-5,79 (m, 2H), 5,33-5,16 (m, 4H), 3,93 (s, 4H), 3,78 (s, 2H), 3,21 (t, 5,7 Hz, 4H), 3,13 (d, 6,2 Hz, 4H), 1,81 (t, 5,7 Hz, 4H).

5-[(dialilamino)metil]-2-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ilsulfonil)tiofeno-3-carboxilato de etilo (1d)

50 Una disolución de la sulfonamida (1c) (3,36 g, 8,43 mmol) en THF (120 ml) se enfrió a -78°C y se trató con *t*-BuLi (7,0 ml, 1,5 M en hexano, 10,5 mmol). Después de 5 min, la mezcla fue canulada en una disolución enfriada (-100°C, acetona/N₂ líquido) de cloroformiato de etilo (6,45 ml, 67,5 mmol) en THF (60 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta -30°C a lo largo de 2 h, y después hasta 23°C durante una noche. La mezcla se concentró en un evaporador rotatorio y se diluyó con EtOAc (250 ml). Un tratamiento estándar (H₂O; salmuera; MgSO₄) y dos cromatografías (EtOAc:ciclohexano 1:4) dio 1,48 g (37%) del éster etílico del título: ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 7,36 (d, 1H), 5,98-5,82 (m, 2H), 5,32-5,17 (m, 4H), 4,33 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,92 (s, 4H), 3,85 (s, 2H), 3,32 (dd, *J* ≈ 6,0, 5,0 Hz, 4H), 3,17 (d, *J* = 6,0 Hz, 4H), 1,74 (dd, *J* ≈ 6,0, 5,0 Hz, 4H), 1,33 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

2-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ilsulfonil)-5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}tiofeno-3-carboxilato de etilo (1e)

Una disolución del éster etílico (1d) (1,47 g, 3,12 mmol) y NDMBA (1,07 g, 6,87 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml) se desgasificó burbujeando argón y sonicando. Después, se añadió Pd(PPh₃)₄ (216 mg, 0,187 mmol) y se agitó la mezcla a 23°C. Después de 2 h, se enfrió la mezcla a -50°C, se trató con Et₃N (525 ul, 3,76 mmol) y cloruro de 3-(metoxibenzoilo) (300 ul, 2,13 mmol), y se calentó a t.a. a lo largo de 30 min. La dilución con EtOAc, tratamiento estándar (H₂O; NaHCO₃ sat.; salmuera; MgSO₄) y cromatografía (EtOAc:ciclohexano 1:1) dio 1,0 g (61%) de la 3-metoxibenzamida del título. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,29 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 7,49-7,34 (m, 4H), 7,12 (ddd, J = 7,9, 2,6, 1,0 Hz, 1H), 4,66 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 4,27 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,84 (s, 4H), 3,80 (s, 3H), 3,24 (dd, J ≈ 6,0, 5,0 Hz, 4H), 1,67 (dd, J ≈ 6,0, 5,0 Hz, 4H), 1,26 (t, J = 7,0 Hz, 3H). M/Z APCI: 525 (M + 1), 523 (M-1).

10 5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-2-[(4-oxopiperidin-1-il)sulfonil]-tiofeno-3-carboxilato de etilo (1f)

Una disolución del espirocetal (1e) (500 mg, 0,953 mmol) en acetona (5 ml) se trató con HCl 1 N (2,5 ml) durante 18 h a 48°C. La dilución con EtOAc y tratamiento estándar (H₂O; NaHCO₃ sat.; salmuera; MgSO₄) dio 425 mg de una mezcla 9:1 de la cetona del título deseada (83%) y de material de partida sin reaccionar (9%) (punto único por TLC). ¹H NMR (CDCl₃) 7,37-7,35 (m, 1H), 7,33-7,29 (m, 3H), 7,05 (ddd, J = 7,7, 2,6, 1,7 Hz, 1H), 6,81 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,74 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 4,31 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,70 (t, J = 6,1 Hz, 4H), 2,52 (t, J = 6,2 Hz, 4H), 1,34 (t, J = 7,1 Hz, 3H). M/Z APCI: 481 (M+1), 479 (M-1).

5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]-anilino}piperidin-1-il)sulfonil]-tiofeno-3-carboxilato de etilo (1g)

Una suspensión de la cetona en bruto (1f) (425 mg, 0,803 mmol), 3-(trifluorometilsulfonil)-anilina (287 mg, 1,27 mmol) y MS en polvo de 3 Å en tetracloroetileno seco (15 ml) se calentó a reflujo durante 17 h bajo condiciones estrictamente anhidras. La mezcla se enfrió hasta 23°C, y se añadió NaBH(OAc)₃ finamente dividido (1,2 g). La agitación se continuó durante 2,5 d. La dilución con EtOAc, tratamiento estándar (H₂O; NaHCO₃ sat.; salmuera; MgSO₄) y cromatografía (EtOAc:ciclohexano 1:1,5 → 2:1) dio 167 mg (35%) de una mezcla de la cetona de partida (1f) y espirocetal (1e), y 216 mg (39%) de la anilinopiperidina del título. ¹H NMR (DMSO-d₆) 9,16 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 7,38-7,23 (m, 5H), 6,97-7,08 (m, 4H), 6,42 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 4,15 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,53 (dm, J = 10,4 Hz, 2H), 3,60-3,43 (m, 1H), 2,81 (t a, J = 10,6 Hz, 2H), 1,84 (dm, J ≈ 11,3 Hz, 2H), 1,35-1,20 (m, 2H), 1,15 (t, J = 7,0 Hz, 3H). M/Z APCI: 690 (M+1), 688 (M-1).

Ácido 5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonil]-anilino}piperidin-1-il)sulfonil]-tiofeno-3-carboxílico (1)

30 Una disolución del éster etílico (1g) (40 mg, 0,058 mmol) en MeOH (4 ml) se trató con NaOH 2M (0,8 ml) durante 2 h a 45°C. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó (NH₄Cl ac.; H₂O; salmuera), se secó (MgSO₄), se concentró hasta 2 ml, y se filtró sobre celite, eluyendo con EtOAc. La evaporación dio 40 mg (96%) del ácido del título M/Z APCI: 662 (M+1), 660 (M-1), 616 (M-CO₂). Anál. HPLC: T.r. = 6,55 min (método a).

35 Los siguientes compuestos (designados como Ejemplo N°) se prepararon según el procedimiento descrito anteriormente, reemplazando la 3-(trifluorometilsulfonil)-anilina por la amina apropiada en la etapa de aminación reductiva.

La siguiente tabla proporciona datos de HPLC y datos de espectroscopía de masas de los ejemplos mencionados (condiciones de la HPLC: Simetría C8 a- MeCN, 0,09% de TFA, 0 a 100% (10 min); Espectro de masas APCI).

Ejemplo	Nombre	T. r. HPLC	Pureza (%)	Gradiente de HPLC	Masa M+1	Masa M-1
2	Ácido 5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-2-[(4-(octilamino)piperidin-1-il)sulfonil]-tiofeno-3-carboxílico	4,58	90,1	a	567	565
3	Ácido 2-[(4-(hexilamino)-1-piperidinil)sulfonil]-5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-3-tiofenocarboxílico	4,04	98	a	538	536
4	Ácido 5-[(3-metoxibenzoil)amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)bencil]amino}-1-piperidinil)sulfonil]-3-tiofenocarboxílico	4,20	95	a	-	610

Ejemplo 5: N-(2-hidroxietil)-5-[[3-metoxibenzoil]amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida

Una disolución del éster etílico (**1g**) (10 mg, 0,015 mmol) y etanolamina (0,1 ml) en MeOH (1 ml) se calentó a reflujo durante 8 h y se concentró a sequedad para dar la amida del título **5** en rendimiento casi cuantitativo. M/Z APCI: 705 (M+1), 703 (M-1). Anál. HPLC: T.r. = 6,14 min (método a).

Los siguientes compuestos (designados como Ejemplo N°) se prepararon según el procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 2), reemplazando la etanolamina por hidrazina, amoniaco acuoso o N,N'-dimetilaminoetilendiamina.

La siguiente tabla proporciona datos de HPLC y datos de espectroscopía de masas de los ejemplos mencionados.

Ejemplo	Nombre	T. r. HPLC	Pureza (%)	Gradiente de HPLC	Masa M+1	Masa M-1
6	N-({4-(hidrazinocarbonil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]-tien-2-il)metil}-3-metoxibenzamida	5,67	79,0	a	520	518
7	5-[[3-metoxibenzoil]amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida	5,63	84,4	a	661	659
8	N-[2-(dimetilamino)etil]-5-[[3-metoxibenzoil]amino]metil}-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida	4,85	98,0	a	732	730

Ejemplo 9: N-({4-(hidroximetil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]-tien-2-il)metil}-3-metoxibenzamida (**9**))

Una disolución del ácido carboxílico (19 mg, 0,029 mmol) se disolvió en complejo borano-THF (1M en THF, 1 ml, 1 mmol), y la disolución se agitó durante 30 min a 23°C. La reacción se calmó con agua (1 ml), se diluyó con EtOAc (10 ml), se secó (MgSO₄), se concentró y se cromatografió (EtOAc:ciclohexano 1:2 → 2:1) para dar 11,1 mg (60%) del alcohol del título. M/Z APCI: 648 (M+1), 646 (M-1). Anál. HPLC: T.r. = 6,43 min (método a).

Ejemplo 10 : Preparación de una formulación farmacéutica

Los siguientes ejemplos de formulación ilustran composiciones farmacéuticas representativas acordes con la presente invención, que no se restringen a las mismas.

Formulación 1- Comprimidos

Un compuesto de sulfonamida de la fórmula I se mezcla como un polvo seco con un aglutinante de gelatina seco en una relación de pesos aproximada de 1:2. Se añade una cantidad minoritaria de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla se conforma en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto de sulfonamida activo por comprimido) en una prensa de comprimidos.

Formulación 2 - Cápsulas

Un compuesto de sulfonamida de la fórmula I se mezcla como un polvo seco con un diluyente de almidón en una relación de pesos aproximada de 1:1. Se llenan con la mezcla cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto de sulfonamida activo por cápsula).

Formulación 3 - Líquido

Un compuesto de sulfonamida de la fórmula I (1250 mg), sacarosa (1,75 g), y goma xantana (4 mg) se mezclan, se hacen pasar a través de un tamiz N° 10 mesh US, y después se mezcla con una disolución previamente preparada de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio (11:89, 50 mg) en agua. Se diluyen con agua benzoato de sodio (10 mg), aroma y color y se añaden con agitación. Después se añade suficiente agua para producir un volumen total de 5 ml.

Formulación 4 - Comprimidos

Un compuesto de sulfonamida de la fórmula I se mezcla como un polvo seco con un aglutinante de gelatina seco en

una relación de pesos aproximada de 1:2. Se añade una cantidad minoritaria de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla se conforma en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto de sulfonamida activo por comprimido) en una prensa de comprimidos.

Formulación 5 - Inyección

- 5 Un compuesto de sulfonamida de la fórmula I se disuelve en un medio acuoso salino inyectable estéril, tamponado, hasta una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.

Ejemplo 11 : Ensayos biológicos

Resultados biológicos

- 10 Las actividades de los derivados de sulfonamida reivindicados en la fórmula I se evaluaron usando los ensayos biológicos in vitro e in vivo descritos a continuación.

Ensayos in vitro de JNK2 y -3

- 15 La fosforilación de c-jun por JNK2 o JNK3 puede ser seguida controlando la incorporación de ³³P en c-jun siguiendo el protocolo a continuación. La actividad inhibitoria de los compuestos acordes con la fórmula I, con respecto a la fosforilación de c-jun mediante JNK, se determina calculando la actividad de fosforilación de una JNK en presencia o ausencia de los compuestos de ensayo acordes con la fórmula I.

- 20 Los ensayos de JNK3 y/o -2 se realizan en placas MTT de 96 pocillos: incubación de 0,5 µg de GST -JNK3 o GST-JNK2 recombinante, preactivado, con 1 µg de GST-c-Jun recombinante, biotinilado, y ³³γ-ATP 2 µM (2 nCi/ µl), en presencia o ausencia de compuestos acordes con la fórmula I y en un volumen de reacción de 50µl que contiene Tris-HCl 50 mM, pH 8,0; MgCl₂ 10 mM; Ditiotreitól 1 mM, y NaVO₄ 100 µM. La incubación se realiza durante 120 min a T.A. y se detiene tras la adición de 200 µl de una disolución que contiene 250µg de perlas SPA revestidas de Estreptavidina (Amersham, Inc.), AEDT 5 mM, Triton X-100 al 0,1% y ATP 50 µM, en suero salino tamponado con fosfato.

- 25 Después de una incubación durante 60 minutos a TA, las perlas se sedimentan por centrifugación a 1500 x g durante 5 minutos, se resuspenden en 200 µl de PBS que contienen AEDT 5 mM, Triton X-100 al 0,1% y ATP 50 µM, y la radioactividad se mide en un contador de escintilación β, después de la sedimentación de las perlas descrita anteriormente. Reemplazando la GST-c Jun biotinilada por GST-γATF₂ o proteína básica de mielina biotinilada, este ensayo también se puede usar para medir la inhibición de p38 y ERK MAP cinasas preactivadas, respectivamente.

<i>Ejemplo N°</i>	<i>JNK3, IC₅₀ (µM)</i>
1	< 0,1
4	< 0,1
6	< 0,1

- 30 Los valores indicados a este respecto se refieren a la IC₅₀ (µM), es decir, la cantidad necesaria para conseguir un 50% de inhibición de dicha diana. Dichos valores muestran una considerable potencia de los compuestos de sulfonamida con respecto a la JNK3.

Los compuestos ensayados acordes con la fórmula I muestran una inhibición (IC₅₀) con respecto a la JNK3 menor que 0,1 µM, más preferiblemente igual o menor que 0,02 µM.

Cultivo de neuronas simpáticas y ensayo de supervivencia

- 35 *La capacidad de los compuestos acordes con la fórmula I de aumentar la tasa de supervivencia de células neuronales que han sido inducidas a muerte celular fue evaluada usando el siguiente protocolo*

- 40 Neuronas simpáticas de ganglios cervicales superiores (SCG) de ratas recién nacidas (p4) se disocian en dispa, se ponen en placa a una densidad de 10⁴ células/cm² en placas MMT de 48 pocillos revestidas con colágeno de cola de rata, y se cultivan en medio Leibowitz que contiene suero de rata al 5%, 0,75 µg/ml de NGF 7S (Boehringer Mannheim Corp., Indianápolis, IN.) y arabinosina 10⁵ M. La muerte celular es inducida en el día 4 después del cultivo en placas exponiendo el cultivo a un medio que contiene 10 µg/ml de anticuerpo anti-NGF (Boehringer Mannheim Corp., Indianápolis, IN.) y no contiene NGF ni arabinosina, en presencia o ausencia de inhibidores de sulfonamida. 24 horas después de la inducción de la muerte celular, se realiza la determinación de la viabilidad celular por incubación del cultivo durante 1 hora, a 37°C, en 0,5 µg/ml de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio (MTT). Después de la incubación en MTT las células se resuspenden en DMSO, se transfieren a una placa MTT de 45 96 pocillos y la viabilidad celular se evalúa midiendo la densidad óptica a 590 nm.

Ensayo de liberación de IL-2:

La capacidad de los compuestos acordes con la fórmula I para modular la respuesta inflamatoria inhibiendo la liberación de IL-2 fue evaluada usando el siguiente protocolo

5 La activación de la ruta JNK provoca la producción de citocinas inflamatorias tales como IL-2. La JNK puede ser activada por estímulos externos tales como PMA e Ionomicina, y la producción de IL-2 puede ser medida por medio de un ensayo ELISA de IL-2. Las medidas comparativas con y sin los compuestos de la invención según el siguiente protocolo miden la capacidad de los compuestos de impedir la liberación de IL-2 mediada por estrés.

10 Se cultivaron células Jurkat, una línea celular de leucemia de linfocitos T humanos (American Type Culture Collection # TIB 152) en medio RPMI 1640 (Gibco, BRL), suplementado con 10% de suero de pantorrilla fetal (FCS) activado por calor, Glutamina y Penstrep. La suspensión de células en el medio se diluye para dar $2 \cdot 10^6$ células/ml. Las células se pusieron en placa ($2 \cdot 10^5$ células/pocillo) en una placa de 96 pocillos que contenía diferentes concentraciones de un compuesto acorde con la fórmula I (concentración final de los compuestos, 10, 3, 1, 0,3, μM). Esta mezcla se incubó 30 minutos a 37°C en una atmósfera de CO_2 humidificada. Después se trataron las células con 10 μl de PMA (Forbolmiristato-13 Acetato-12) + Ionomicina (concentración final 0, μM y 1 μM) en todos los pocillos excepto el control negativo. En los pocillos sin compuestos, se añaden μl de RPMI 2% DMSO (=0,1% final). Las células se incuban 24 horas a 37°C y después se recoge el sobrenadante (se congela a -20°C si no se usa el mismo día) antes de realizar el ensayo ELISA IL-2 sobre el sobrenadante.

Ensayo ELISA IL-2:

20 La liberación de IL-2 en el medio por células Jurkat estimuladas con (PMA + Ionomicina), en presencia o ausencia de los compuestos de ensayo, se puede evaluar por ELISA siguiendo el procedimiento descrito a continuación.

Se usa anticuerpo monoclonal anti-IL-2 humana (MAB602) (captura), anticuerpo anti-IL-2 humana biotinilado (BAF202) (detección) y IL-2 humana recombinante (202-IL.010) (patrón) de R&D Systems.

Preparación de la placa

25 100 μl de anticuerpo de captura diluido en PBS a 5 $\mu\text{g/ml}$ (PBS-Tween 0,05%) se transfieren a una placa ELISA de 96 pocillos y se incuban durante una noche a temperatura ambiente.

Cada pocillo es aspirado y lavado 3 veces con tampón de lavado (PBS-Tween 0,05%). Después del último lavado, la placa se humedece.

Procedimiento de ensayo

- 30 1. Se añaden 100 μl de muestra o patrón (2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 $\mu\text{g/ml}$) y se incuban 2 horas a temperatura ambiente.
2. Lavado 3 veces
3. Se añaden 100 μl de anticuerpo anti-IL-2 humana biotinilado a 12,5 $\mu\text{g/ml}$ y se incuban 2 horas a temperatura ambiente.
4. Lavado 3 veces
- 35 5. Se añaden 100 μl de estreptavidina-HRP (Zymed #43-4323) a 1:10.000 y se incuban 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Lavado 3 veces
7. Se añaden 100 μl de la disolución sustrato (ácido cítrico/ Na_2HPO_4 (1:1) + H_2O_2 1:2000 + OPD) y se incuban 20-30 minutos a temperatura ambiente.
- 40 8. Se añaden 50 μl de disolución de parada (H_2SO_4 al 20%) a cada pocillo.
9. Se mide la densidad óptica usando un lector de placas microtitulador ajustado a 450 nm con corrección a 570 nm.

Ensayo mensajero de c-Jun

45 La fosforilación del factor transcripcional, c-jun, por JNK en la ruta de transducción de señales de cinasas MAP puede ser seguida por medio de un sistema trans-mensajero tal como el PathDetect® disponible en el mercado (32).

Después se puede evaluar la inhibición de la fosforilación por parte de los compuestos acordes con la fórmula I.

Un sistema trans-mensajero nos permite seguir, por medio de la actividad de Luciferasa, el estado de activación de

una proteína trans-activadora de fusión. La proteína trans-activadora consiste en el dominio de activación del factor transcripcional de interés (c-jun) fusionado con un activador transcripcional de levadura, el dominio de unión al DNA GAL4 (dbd). El GAL4 dbd tiene la ventaja de que ningún factor transcripcional de mamíferos conocido se puede unir a él, y por lo tanto el ruido de fondo del ensayo es muy bajo.

5 En el presente caso, se usaron líneas celulares Hela Luciferasa mensajera-c-Jun (HLC-c-Jun) que expresan constitutivamente GAL4-c-Jun.

Se insertó el gen MEKK-1. MEKK-1 es una MAPKKK que provoca la activación de JNK. La expresión de MEKK-1 de tipo salvaje es suficiente para la activación de JNK (33).

10 Una vez que la JNK está activada puede inducir la fosforilación del dominio c-jun de la proteína trans-activadora de fusión (GAL4dbd-cJun) que forma un dímero. Después el dímero es capaz de unirse a una secuencia activadora corriente arriba de GAL4 (GAL4 UAS) del mensajero que activa la expresión de Luciferasa.

La expresión de Luciferasa es detectada por luminiscencia usando un ensayo sencillo tal como Dual-Luciferase® Reporter Assay System (34) en el que se usa Renilla como "mensajero de control".

15 La inhibición de JNK se observa como una disminución en la expresión de Luciferasa y se detecta por una disminución en luminiscencia.

Cultivo celular

Se cultivan células HLR-c-Jun en DMEM High Glc suplementado con FCS al 10% (Sigma), Glutamina 2 mM (Gibco), P/S, Higromicina b 100 µg/ml, y G418 250 µg/ml.

Preparación del cultivo celular

20 ***Bancos de células***

Las células se almacenan congeladas en criotubos bajo nitrógeno líquido, como volúmenes de 1,8 ml de suspensión celular en medio de cultivo que contiene dimetilsulfóxido al 10%.

Fusión del cultivo celular

25 Cuando es necesario, los viales congelados de las células se funden rápidamente a 37°C en un baño de agua removiendo suavemente hasta una fusión semicompleta. Después, la suspensión de células se añade a 10 ml de medio de cultivo y después se centrifuga durante 5 minutos a 1200 rpm. El sobrenadante se retira y el pelet de células se reconstituye en el medio. Los matraces se incuban a 37 ° en una atmósfera de CO₂ al 5%.

Pasaje de las células

30 Las células se subcultivan en serie (se someten a pasaje) cuando se ha obtenido un 80% de monocapas confluyentes.

El medio de cada matraz se retira y la monocapa se lava con 10-15 ml de disolución de tampón fosfato (PBS).

35 Se añade una disolución de tripsina-ALT a la monocapa de las células, se incuba a 37°C y se golpea suavemente a intervalos para desprender las células. La completa separación y desagregación de la monocapa celular se confirma por un examen de microscopía. Después, las células se resuspenden en 10 ml de medio completo y se centrifugan durante 5 minutos a 1.200 rpm. Los sobrenadantes se descartan, las células se resuspenden en medio de cultivo y se diluyen 1/5 en matraces de 175 cm².

Mañana del día 0

Preparación de células para transfecciones

40 Las células de cultivos casi confluyentes son despegadas y desagregadas por tratamiento con tripsina como se describió anteriormente.

Las células se resuspenden en medio de cultivo y se cuentan.

Las suspensiones celulares se diluyen con el medio para dar aproximadamente 3,5 x 10⁶ células/ml, y 1 ml de suspensión celular se pone en 2 platos de cultivo de 10 cm que contienen 9 ml de medio de cultivo.

Las placas se incuban a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO₂ en aire.

Noche del día 0

Transfecciones

Control : 0,2 µg de pTK Renilla, 5,8 µg de pBluescript KS, 500 µl de OPTIMEM (GIBCO), 18 µl de Fugene 6

Inducidas : 0,1 µg de pMEKK1, 0,2 µg de pTK Renilla, 5,7 µg de pBluescript KS, 500 µl de OPTIMEM (GIBCO), 18 µl de Fugene 6 30' TA.

- 5 La mezcla de transfección se añade a las células puestas en las placas. Las placas se incuban durante una noche a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO₂ en aire.

Día 1

Se prepara una placa de 96 pocillos (100 µl de medio de cultivo por pocillo).

Control negativo (vehículo): se añaden 2 µl de DMSO a los 100 µl (en triplicado).

- 10 Se añaden 2 µl de diluciones patrón de compuesto acorde con la fórmula I (3, 1 y 0,1 mM en 100% de DMSO) a los 100 µl (en triplicado).

Las células transfectadas son tripsinizadas y resuspendidas en 12 ml de medio de cultivo.

Se añaden 100 µl de la dilución a cada uno de los 96 pocillos de la placa.

La placa se incuba durante una noche a 37°C en un atmósfera humidificada de 5% de CO₂ en aire.

- 15 **Día 2**

Procedimiento de ensayo: Dual-Luciferase ® Reporter Assay System (34).

- 20 El medio se retira de la placa y las células se lavan dos veces con ~~100~~ 100 µl de PBS. Se aplica un reactivo de lisis (Passive Lysis Buffer, PLB). En cada pocillo de cultivo se dispensan 5 µl de 1X PLB. Las placas de cultivo se ponen en una plataforma basculante o agitador orbital con una basculación/agitación suave para asegurar la completa cobertura de la monocapa celular con 1X PLB. Las placas de cultivo son basculadas a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se transfieren 20 µl del lisado a una placa de 96 pocillos blanca opaca. Se registra la lectura del luminómetro.

Se inyectan 50 µl de Reactivo de Ensayo de Luciferasa II y las lecturas se registran a 5 y 10 minutos.

Se inyectan 50 µl de Reactivo Stop & Glo ® y las lecturas se registran a 5 y 10 minutos.

- 25 Después se mide la luminiscencia relativa: RLU Luciferasa/RLU Renilla.

Choque endotoxínico inducido por LPS en ratones

La capacidad de los inhibidores de JNK descritos en la fórmula I para reducir significativamente el nivel de citocinas inflamatorias inducidas por desafío con LPS fue evaluada usando el siguiente protocolo:

- 30 Las endotoxinas son los constituyentes lipopolisacáridos (LPS) de la membrana exterior de bacterias Gram negativas. Se ha demostrado que la respuesta a LPS implica la activación de diferentes poblaciones celulares, y que conduce a la expresión de diversas citocinas inflamatorias que incluyen el factor alfa de necrosis tumoral (TNF α) y el interferón gamma (IFN- γ).

- 35 Como se sabe que los LPS estimulan la activación de diversas rutas de cinasas MAP, incluyendo JNK (35), se puede ensayar la capacidad de inhibidores de JNK después de que la ruta de señales JNK ha sido activada por un desafío con LPS.

La actividad como inhibidores de JNK de los compuestos de la fórmula I puede ser evaluada después de un desafío con LPS usando el siguiente protocolo:

- 40 Se inyecta LPS (S. abortus-Galanos Lab.-) (200 µg/kg, i.v.) a ratones C57BL/6 macho para inducir un choque endotoxínico. Se inyectan por vía intravenosa los compuestos acordes con la fórmula I (0,1, 1, 10 mg/kg) o NaCl (200 µM) 15 min antes del desafío con LPS. Se obtuvo sangre heparinizada del seno orbital en diferentes puntos de tiempo después del desafío con LPS, y la sangre se centrifugó a 9.000 rpm durante 10 min a 4°C para recoger el sobrenadante. La medida de la producción de citocinas tales como TNF α y IFN γ por parte del ratón se realiza con un kit ELISA tal como Douset ® DY 410 para TNF α y DY 485 para IFN γ . Se pueden usar otros ensayos ELISA tal como se describe en (36).

Isquemia global en jerbos

La capacidad de los inhibidores de JNK descritos en la fórmula I para proteger la muerte celular durante un evento de apoplejía fue evaluada usando el siguiente protocolo:

La oclusión de la carótida bilateral del jerbo es un modelo animal bien descrito de apoplejía isquémica aguda, e implica técnicas quirúrgicas relativamente fáciles.

- 5 La degeneración neuronal en el hipocampo se desarrolla a lo largo de varios días, y se denomina a menudo “muerte neuronal retardada”. Además, la neurodegeneración observada histológicamente es obvia y se cuantifica fácilmente (37). Además, la histopatología vista en el jerbo es similar a la observada en la región CA1 hipocámpica del cerebro humano después de un ataque cardíaco. Se pudieron realizar observaciones del comportamiento, tales como pruebas de memoria, incluso en el caso de los jerbos. Este tipo de pruebas para la apreciación del grado de recuperación no es fácilmente manejable en otros modelos tales como en ratas, cuyas capacidades de aprendizaje son mucho más pobres (38).

El efecto neuroprotector de los compuestos acordes con la fórmula I puede ser evaluado usando el modelo de isquemia global del jerbo y tal protocolo:

-1- MÉTODO

15 * Cirugía

- Anestesia con isoflurano (0,5-4%)
- Las arterias carótidas comunes (izquierda y derecha) se liberan de tejido.
- Oclusión de las arterias usando micrograpas Bulldog durante 4 min.
- Retirada de grapas (reperusión)
- 20 - Estabulación de los animales bajo lámpara calefactora hasta que se despierten.
- Estabulación de los animales en el animalario en jaulas individuales.

* Sacrificio de los animales

- 7 días después de la isquemia (decapitación o sobredosis de pentobarbital).
- Toma de muestras del cerebro.

25 * Parámetros histológicos

- Congelación del cerebro en isopentano (-20°C)
- Corte en rodajas del hipocampo usando un crio-microtomo (20 µm).
- Tinción con método del violeta de cresilo.
- Evaluación de las lesiones (en subcampos CA1/CA2 del hipocampo) mediante una puntuación de Gerahard y Boast modificada (39).

30

-2- TRATAMIENTO

- Administración del compuesto acorde con la fórmula I o del vehículo: 15 min, 24 horas y 48 horas después de la reperusión (5-10 min después de la recuperación de la anestesia).
- Protocolo estándar

- 35 50 animales: 5 grupos de 8 (grupo A: control, grupos B-D: artículo de ensayo a 3 dosis y grupo E: compuesto de referencia (Ácido orótico 3 x 300 mg/kg, ip).

Solubilidad de los compuestos de la fórmula (I)

Los compuestos se han evaluado con respecto a su solubilidad en el agua, a un pH de 7,4 a temperatura ambiente. En general, la solubilidad de los compuestos de la fórmula (I) está en un intervalo de al menos 100 µg/ml de disolvente, más preferiblemente de al menos 100 µg/ml de disolvente. El compuesto 1 muestra una solubilidad a t.a. a pH 7,4 de 0,18 mg/ml.

40

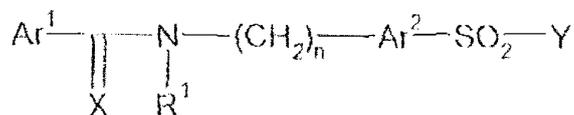
Referencias:

1. **Davis, Roger J.**, Signal Transduction by the JNK Group of MAP Kinases, *Cell*, 2000, 103: 239-252.
2. **Chen, Yi-Rong y Tan, Tse-Hua.** The c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptotic signalling, *International Journal of Oncology*, 2000, 16: 651-662.
- 5 3. **Ip, YT. y Davis, R.J.**, Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) from c-Jun N-terminal kinase (JNK) from inflammation to development *Curr Opin Cell Biol* 1998, 10: 205-219.
4. **Leppä, S. y Bohmann D.**, Diverse functions of JNK signalling and c-Jun in stress response and apoptosis, *Oncogene*, 1999, 18(45): 6158-6162.
- 10 5. **Minden, A. y Karin M.**, Regulation and function of the JNK subgroup of MAP kinases. *Biochim Biophys Acta* 1997, 1333: F85-F104.
6. **Whitmarsh, A.J., y Davis, R.J.**, Transcription factor AP-1: regulation by mitogen activated protein kinases signal transduction pathways. *J. Mol. Med.* 1996, 77, 2360-2371.
7. **Gupta, S. et al.**, Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors. *The EMBO Journal*, 1996, 15(11): 2760-2770.
- 15 8. **Derek D. et al.**, Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the Jnk3 gene. *Nature*, 1997, 389: 865-876.
9. **Martin, Loel H. et al.**, Developmental expression in the mouse nervous system of the p49^{3F12} SAP kinase. *Molecular Brain Research*, 1996, 35: 47-57.
- 20 10. **Kumagae, Y. et al.**, Human c-Jun N-terminal kinase expression and activation in the nervous system, *Molecular Brain Research*, 1999, 67: 10-17
11. **Dumitru, Calin D. et al.**, TNF-alpha induction by LPS is regulated posttranscriptionally via a Tp12/ERK-dependent pathway. *Cell* 2000, 103, 1071-1083.
- 25 13. **Nishina, H. et al.** Impaired CD-28 mediated interleukin 2 production and proliferation in stress kinase SAPK/ERK1 kinase (SEK1)/mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MKK4)-deficient T lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine* 1997, 186(6): 941-953.
- 30 14. **Kempiak, Stephan J. et al.**, The Jun Kinase Cascade is responsible for activating the CD28 Response element of the IL-2 Promoter: proof of cross-talk with the IKB Kinase Cascade, *The Journal of Immunology*, 1999, 162: 3176-3187.
15. **De la Monte, S. M. et al.**, Oxygen free radical injury is sufficient to cause some Alzheimer-type molecular abnormalities in human CNS neuronal cells. *J. Alzheimer's Dis.* 2000, 2(3-4): 261-281.
- 35 16. **Zhu, X.**, Activation and redistribution of c-Jun N-terminal kinase/stress activated protein kinase in degenerating neurons in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* 2001, 76: 435-441.
17. **Force, T. et al.**, Stress-Activated Protein Kinases in cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 1996, 78: 947-953.
18. **Kim, S. et al.**, Angiotensin blockade inhibits activation of mitogen-activated protein Kinases in rat balloon-injured artery. *Circulation* 1998, 97:1731-1737.
- 40 19. **Xu, Q. et al.**, Acute Hypertension Activates Mitogen-activated Protein Kinases in Arterial Wall. *The Journal of Clinical Investigation* 1996, 97(2): 508-514.
20. **Bogoyevitch, M.A. et al.**, Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. *Circulation research*, 1996, 79: 162-173.
21. **Pombo, CM. et al.**, The stress-activated protein kinases are major c-Jun amino-terminal kinases activated by ischemia and reperfusion, *J. Biol. Chem.* 1994, 269- (42): 26546-26551.
- 45 22. **Onishi, I. et al.**, Activation of c-Jun N-terminal kinase during ischemia and reperfusion in mouse liver, *FEBS Letters* 1997, 420: 201-204
23. **Safirstein, R.**, Renal stress response and acute renal failure *Adv. Ren. Replace Ther.* 1997, 4 (2 Suppl 1): 38-42

24. **Butterfield, L. et al.**, C-Jun NH2-terminal kinase regulation of the apoptotic response of small cell lung cancer cells to ultraviolet. *The Journal of Biological Chemistry* **1997**, 272(15): 10110-10116.
25. **Hu, M. et al.**, JNK1, JNK2 and K3 are N-terminal serine 34 kinases, *Oncogene* **1997**, 15: 2277-2287.
- 5 26. **Xu, X. et al.**, Constitutively activated JNK is associated with HTLV-1 mediated tumorigenesis, *Oncogene* **1996**, 13: 135-142.
27. **Chen YR y Tan TH**, The c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptotic signaling, *Int. J. Oncol.* **2000**, 16(4): 651-62.
28. **Harding, T.C. et al.**, Inhibition of JNK by overexpression of the JNK binding domain of JIP-1 prevents apoptosis in sympathetic neurons. *The Journal Of Biological Chemistry* **2001**, 276(7): 4531-4534.
- 10 29. **Gennaro, A.R. et al.**, Remington's Pharmaceutical Sciences. 18th ed. Easton: The Mack Publishing Company, 1995.
30. **Green TW y Wuts PG, 1999**, 3rd Edition, Wiley Ed.
31. **Abdel-Magid AF et al.**, Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoxyborohydride. Studies on direct and indirect reductive amination procedures, *Journal of organic Chemistry* **1996**, 61, 3849-62.
- 15 32. **Xu, L. et al.**, Assess the in-vivo activation of signal transduction pathways with Pathdetect ® reporting systems, *Strategies* **2001**, 14(1): 17-19.
33. **Xu, S. et al.**, Cloning of rat MEK kinase 1 cDNA reveals an endogenous membrane-associated 195-kDa protein with a large regulatory domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93: 5291-5295.
- 20 34. **Patente de EE.UU. Número 5.744.320**; Promega Corporation; 28 de Abril de 1998
35. **Guha, M., y Mackman, N.**, LPS induction of gene expression in human monocytes, *Cellular Signalling* **2001**, 13: 85-94.
36. **Fomsgaard, A. et al.**, Quantification and biological activities of native tumour necrosis factor from LPS-stimulated human monocytes, *APMIS* **1990**, 98(6): 529-34.
- 25 37. **Hunter J.L. et al.**, Animal models of acute ischaemic stroke: can they predict clinically successful neuroprotective drugs? *TIPS* **1995**, 16:123-128.
38. **Block, F.**, Global Ischemia And Behavioural Deficits, *Progress in Neurobiology* **1999**, 58: 279-295.
39. **Gerhard SC y Boast CA**, *Behavioral Neuroscience* **1988**, 102: 301-303.

REIVINDICACIONES

1. Derivados de sulfonamida hidrófilos según la fórmula I



con sus isómeros geométricos, en una forma ópticamente activa como enantiómeros, diastereómeros,

5 así como en la forma de racematos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde

Ar^1 es fenilo opcionalmente sustituido por $-\text{OR}$, en donde R es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

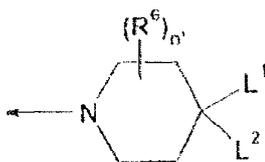
Ar^2 es un grupo tienilo que lleva al menos un sustituyente hidrófilo, en donde el sustituyente hidrófilo es $-\text{COOR}^3$, $-\text{CONR}^3\text{R}^3$, OH, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido con OH o un grupo amino, un grupo hidrazido-carbonilo, un sulfato, un sulfonato, una amina o una sal de amonio;

10 X es O o S;

R^1 es hidrógeno o un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

N es un número entero de 1 a 3;

Y tiene la fórmula general



15 en la que L^1 y L^2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, $-\text{NR}^3\text{R}^3$, $-\text{NR}^3\text{C}(\text{O})\text{R}^3$, $-\text{NR}^3\text{C}(\text{O})\text{R}^3\text{R}^3$, $-(\text{SO})\text{R}^3$, $-(\text{SO}_2)\text{R}^3$, $-\text{NSO}_2\text{R}^3$, $-\text{SO}_2\text{NR}^3\text{R}^3$,

siendo R^3 y R^3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alqueno $\text{C}_2\text{-C}_6$, arilo que es fenilo, aril-alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ que es fenil-alquilo- $\text{C}_1\text{-C}_6$,

estando dicho grupo arilo opcionalmente sustituido por halógeno, hidroxilo, nitro, sulfonilo;

20 R^6 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$, OH, halógeno, nitro, ciano, sulfonilo, oxo ($=\text{O}$), y

n' es un número entero de 0 a 4.

25 2. Un derivado de sulfonamida según la reivindicación 1, en el que Ar^1 es un grupo fenilo sustituido opcionalmente por $-\text{OR}$, en donde R es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; X es O, R^1 es hidrógeno, n es 1, Ar^2 es un grupo tienilo que lleva un grupo seleccionado de $-\text{COOR}^3$, $-\text{CONR}^3\text{R}^3$, OH, un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido con un grupo OH o amino, un grupo hidrazidocarbonilo.

3. Un derivado de sulfonamida según la reivindicación 2, en el que Y es



30 en donde L^2 es H, L^1 es $-\text{NHR}^3$, siendo R^3 un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, un arilo que es fenilo, aril-alquilo- $\text{C}_1\text{-C}_6$ que es fenil-alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$,

estando dicho grupo arilo sustituido opcionalmente x

por halógeno, hidroxilo, nitro, sulfonilo.

4. Un derivado de sulfonamida seleccionado del siguiente grupo:

ácido 5-[[3-(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}-piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxílico;

ácido 5-[[3-(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[[4-(octilamino)piperidin-1-il]sulfonyl]-tiofeno-3-carboxílico;

5 N-(2-hidroxietyl)-5-[[3-(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida;

N-((4-(hidrazinocarbonil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tien-2-il)metil)-3-metoxibenzamida;

5-[[3-(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}-piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida;

10 N-[2-(dimetilamino)etyl]-5-[[3-(3-metoxibenzoil)amino]metil]-2-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tiofeno-3-carboxamida;

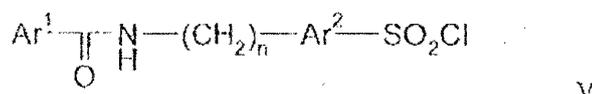
N-((4-(hidroximetil)-5-[(4-{3-[(trifluorometil)sulfonyl]anilino}piperidin-1-il)sulfonyl]tien-2-il)metil)-3-metoxibenzamida.

5. Un derivado de sulfonamida según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso como medicamento.

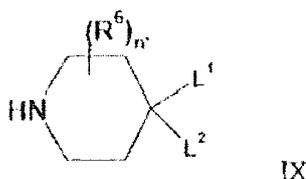
15 6. Uso de un derivado de sulfonamida según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neuronal seleccionado de epilepsia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedades retinales, lesión de la médula espinal, esclerosis múltiple, trauma en la cabeza e isquemia, una enfermedad autoinmune seleccionada de enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), artritis reumatoide, asma, choque séptico, rechazo a transplantes, un cáncer seleccionado de cáncer de mama, colorrectal, pancreático, ovárico, de próstata, testicular, hepático, de riñón, de pulmón, una enfermedad cardiovascular que incluye apoplejía, arterosclerosis, infarto de miocardio, lesión por reperfusión miocordial, y una dolencia isquémica que incluye lesiones por reperfusión de corazón, renal, de riñón y cerebro, fallo renal.

7. Una composición farmacéutica que contiene al menos un derivado de sulfonamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 8. Procedimiento para la preparación de un derivado de sulfonamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que un cloruro de sulfonylo V



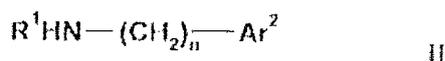
se hace reaccionar con una amida cíclica IX



en la que $(\text{R}^6)_n$, L^1 y L^2 son como se definieron anteriormente.

30 9. Un procedimiento según la reivindicación 8, en el que un cloruro de sulfonylo V es obtenible

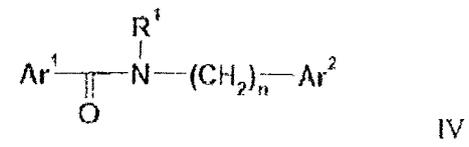
a) acoplando una amina de la fórmula II:



donde Ar^2 y R^1 son como se definieron anteriormente, con un cloruro de acilo de la fórmula III:



35 donde Ar^1 es como se definió anteriormente, para proporcionar una amida de la fórmula IV:



b) sulfonando la amida de la fórmula IV para proporcionar un cloruro de sulfonilo V

