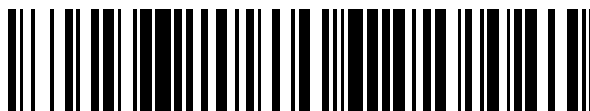


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 595**

51 Int. Cl.:

C07D 239/42 (2006.01)

C07D 239/48 (2006.01)

A61K 31/505 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.11.2012 PCT/EP2012/073761**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13079493**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2012 E 12797826 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 2807152**

54 Título: **Derivados de aminopirimidina como moduladores de LRRK2**

30 Prioridad:

29.11.2011 US 201161564753 P

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

23.10.2017

73 Titular/es:

**GENENTECH, INC. (100.0%)
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**BAKER-GLENN, CHARLES;
CHAMBERS, MARK;
CHAN, BRYAN K.;
CHEN, HUIFEN;
ESTRADA, ANTHONY;
SHORE, DAVID y
SWEENEY, ZACHARY**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 638 595 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 aminopirimidina como moduladores de LRRK2

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a compuestos que modulan la función de LRRK2 y son útiles para el tratamiento de enfermedades y afecciones mediadas por LRRK2, tales como la enfermedad de Parkinson.

10 **Antecedentes de la invención**

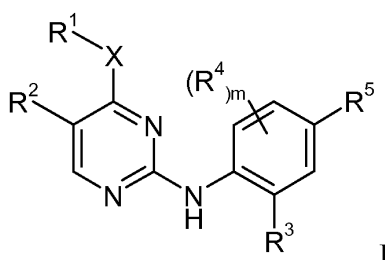
Enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson, la demencia de cuerpos de Lewy y la enfermedad de Huntington afectan a millones de individuos. La enfermedad de Parkinson es un trastorno crónico y progresivo del sistema motor que afecta aproximadamente a una de cada 1000 personas, con la enfermedad hereditaria de Parkinson representando el 5-10 % de todos los pacientes. La enfermedad de Parkinson es causada por la pérdida progresiva de las neuronas de la dopamina del cerebro medio, que deja a los pacientes con capacidad disminuida para dirigir y controlar sus movimientos. Los síntomas primarios de la enfermedad de Parkinson son el temblor, la rigidez, la lentitud del movimiento y el deterioro del equilibrio. Muchos pacientes con enfermedad de Parkinson también experimentan otros síntomas tales como cambios emocionales, pérdida de memoria, problemas de habla y trastornos del sueño.

El gen que codifica la proteína 2 quinasa rica en leucina (LRRK2) se ha identificado en asociación con la enfermedad hereditaria de Parkinson (Paisan-Ruiz et al., *Neuron*, Vol. 44(4), 2004, pág. 595-600; Zimprich et al., *Neuron*, Vol. 44(4), 2004, 601-607). Los estudios in vitro muestran que la mutación asociada a la enfermedad de Parkinson conduce a una mayor actividad de LRRK2 quinasa y una disminución de la tasa de hidrólisis de GTP en comparación con el tipo salvaje (Guo et al., *Experimental Cell Research*, Vol. 313(16), 2007, pág. 3658-3670. Se han usado anticuerpos anti-LRRK2 para marcar cuerpos de Lewy de tronco cerebral asociados con la enfermedad de Parkinson y anticuerpos corticales asociados con demencia del cuerpo de Lewis, lo que sugiere que LRRK2 puede desempeñar un papel importante en la formación de cuerpos de Lewy y patogénesis asociada con estas enfermedades (Zhou et al., *Molecular Degeneration*, 2006, 1:17 doi: 10.1186/1750-1326-1-17). LRRK2 también ha sido identificado como un gen potencialmente asociado con un aumento de la susceptibilidad a la enfermedad de Crohn y la susceptibilidad a la lepra (Zhang et al., *New Engly J. Med.* Vol. 361 (2009) pág. 2609-2618.

LRRK2 también se ha asociado con la transición de deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer (documento WO2007/149789); discinesia inducida por L-Dopa (Hurley et al., *Eur. J. Neurosci.*, Vol. 26, 2007, pág. 171-177; trastornos del SNC asociados con la diferenciación de progenitores neuronales (Milosevic et al., *Neurodegen.*, Vol. 4, 2009, pág. 25); cánceres, tales como de riñón, mama, próstata, cánceres de sangre y pulmón y leucemia mielógena aguda (documento WO2011/038572); carcinomas papilares renales y tiroideos (Looyenga et al., www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1012500108); mieloma múltiple (Chapman et al., *Nature* Vol. 471, 2011, pág. 467-472); esclerosis lateral amiotrófica (Shtilbans et al., *Amyotrophic Lateral Sclerosis* "Early Online 2011, pág. 1-7); artritis reumatoide (Nakamura et al., *DNA Res.* Vol. 13(4), 2006, pág. 169-183); y espondilitis anquilosante (Danoy et al., *PLoS Genetics*, Vol. 6(12), 2010, e1001195, pág. 1-5). Se puede hacer referencia adicional al documento WO2009/127642. Por consiguiente, los compuestos y composiciones eficaces para modular la actividad de LRRK2 pueden proporcionar un tratamiento para enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson y demencia de cuerpos de Lewy, para trastornos del SNC, tales como la enfermedad de Alzheimer y discinesia inducida por L-Dopa, para cánceres, tales como de riñón, mama, próstata, sangre, cánceres papilares y de pulmón, leucemia mielógena aguda y mieloma múltiple, y para enfermedades inflamatorias, tales como lepra, enfermedad de Crohn, esclerosis lateral amiotrófica, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante. En particular, hay una necesidad de compuestos con afinidad de LRRK2 que sean selectivos para LRRK2 sobre otras quinastas, tales como JAK2, y que pueden proporcionar fármacos eficaces para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Parkinson.

Sumario de la invención

55 La invención proporciona compuestos de la fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

m es de 0 a 3;

5 X es: $-NR^a-$; $-O-$; o $-S(O)_r-$ en donde r es de 0 a 2 y R^a es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

R^1 es: alquilo C_{1-6} ;

10 R^2 es: halo; alcoxi C_{1-6} ; ciano; alquinilo C_{2-6} ; alquenilo C_{2-6} ; halo-alquilo C_{1-6} ; halo-alcoxi C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-6} en donde la porción de cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituida con alquilo C_{1-6} ; cicloalquil C_{3-6} -alquilo C_{1-6} en donde la porción de cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituida con alquilo C_{1-6} ; tetrahidrofuranilo; tetrahidrofuranoil-alquilo C_{1-6} ; acetilo; oxetanilo; u oxetan-alquilo C_{1-6} ;

15 R^3 y R^4 cada uno independientemente es: halo; alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; cicloalquiloxi C_{3-6} ; halo-alquilo C_{1-6} ; o halo-alcoxi C_{1-6} ;

20 o R^3 y R^4 junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un anillo de cinco o seis miembros que incluye opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S, estando el anillo opcionalmente sustituido una o más veces con R^6 ;

R^5 es: alquil-sulfonilo C_{1-6} ; o; ciano;

R^6 es: alquilo C_{1-6} ; halo; halo-alquilo C_{1-6} ; u oxo.

25 La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, métodos de uso de los compuestos y métodos de preparación de los compuestos.

Descripción detallada de la invención

30 Definiciones

A menos que se indique otra cosa, los siguientes términos usados en esta solicitud, incluyendo la memoria descriptiva y las reivindicaciones, tienen las definiciones proporcionadas a continuación. Debe destacarse que, como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencia en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

40 "Alquilo" significa el resto de hidrocarburo saturado lineal o ramificado monovalente, que consiste de átomos de carbono e hidrógeno únicamente, que tienen de uno a doce átomos de carbono. "Alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo de uno a seis átomos de carbono, es decir alquilo C_1-C_6 . Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, n-hexilo, octilo, dodecilo y similares.

45 "Alquenilo" significa un radical de hidrocarburo lineal monovalente de dos a seis átomos de carbono o un radical de hidrocarburo ramificado monovalente saturado de tres a seis átomos de carbono, que contiene al menos un doble enlace, *por ejemplo*, etenilo, propenilo y similares.

50 "Alquinilo" significa un radical de hidrocarburo lineal monovalente de dos a seis átomos de carbono o un radical de hidrocarburo ramificado monovalente saturado de tres a seis átomos de carbono, que contiene al menos un triple enlace, *por ejemplo*, etinilo, propinilo y similares.

"Alquileno" significa un radical de hidrocarburo saturado lineal divalente de uno a seis átomos de carbono o un radical de hidrocarburo saturado ramificado divalente de tres a seis átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, pentileno y similares.

55 "Alcoxi" y "alquiloxi", que pueden usarse de forma intercambiable, significan un resto de la fórmula $-OR$, en donde R es un resto de alquilo como se define en el presente documento. Los ejemplos de restos alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, isopropoxi y similares.

60 "Alcoxialquilo" significa un resto de la fórmula R^a-O-R^b , en donde R^a es alquilo y R^b es alquileno como se define en el presente documento. Los grupos alcoxialquilo a modo de ejemplo incluyen, a modo de ejemplo, 2-metoxietilo, 3-metoxipropilo, 1-metil-2-metoxietilo, 1-(2-metoxietil)-3-metoxipropilo y 1-(2-metoxietil)-3-metoxipropilo.

"Alcoxialcoxi" significa un grupo de fórmula $-O-R-R'$ en donde R es alquileno y R' es alcoxi como se define en el presente documento.

65 "Alquilcarbonilo" significa un resto de la fórmula $-C(O)-R$, en donde R es alquilo como se define en el presente

documento.

"Alcoxicarbonilo" significa un grupo de fórmula $-C(O)-R$ en donde R es alcoxi como se define en el presente documento.

5 "Alquilcarbonilalquilo" significa un grupo de la fórmula $-R-C(O)-R$ en donde R es alquileo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

10 "Alcoxicarbonilalquilo" significa un grupo de fórmula $-R-C(O)-R$ en donde R es alquileo y R' es alcoxi como se define en el presente documento.

"Alcoxicarbonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-C(O)-R'$ en donde R es alquileo y R' es alcoxi como se define en el presente documento.

15 "Hidroxicarbonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-C(O)-OH$ en donde R es alquileo como se define en el presente documento.

"Alquilaminocarbonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-C(O)-NHR'$ en donde R es alquileo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

20 "Dialquilaminocarbonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-C(O)-NR'R''$ en donde R es alquileo y R' y R'' son alquilo como se define en el presente documento.

25 "Alquilaminoalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-NHR'$ en donde R es alquileo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

"Dialquilaminoalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-NR'R''$ en donde R es alquileo y R' y R'' son alquilo como se define en el presente documento.

30 "Alquilsulfonilo" significa un resto de la fórmula $-SO_2-R$, en donde R es alquilo como se define en el presente documento.

"Alquilsulfonilalquilo" significa un resto de la fórmula $-R'-SO_2-R''$ en donde R' es alquileo y R'' es alquilo como se define en el presente documento.

35 "Alquilsulfonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-SO_2-R'$ en donde R es alquileo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

40 "Amino" significa un resto de fórmula $-NRR'$ en donde R y R' cada uno independientemente es hidrógeno o alquilo como se define en el presente documento. "Amino" por lo tanto incluye "alquilamino" (en donde uno de R y R' es alquilo y el otro es hidrógeno) y "dialquilamino" (en donde R y R' son ambos alquilo).

"Aminocarbonilo" significa un grupo de la fórmula $-C(O)-R$ en donde R es amino como se define en el presente documento.

45 "Alcoxi-amino" significa un resto de la fórmula $-NR-OR'$ en donde R es hidrógeno o alquilo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

50 "Alquilsulfanilo" significa un resto de la fórmula $-SR$ en donde R es alquilo como se define en el presente documento.

"Aminoalquilo" significa un grupo $-R-R'$ en donde R' es amino y R es alquileo como se define en el presente documento. "Aminoalquilo" incluye aminometilo, aminoetilo, 1-aminopropilo, 2-aminopropilo y similares. En resto amino de "aminoalquilo" puede estar sustituido una o dos veces con alquilo para proporcionar "alquilaminoalquilo" y "dialquilaminoalquilo" respectivamente. "Alquilaminoalquilo" incluye metilaminometilo, metilaminoetilo, metilaminopropilo, etilaminoetilo y similares. "Dialquilaminoalquilo" incluye dimetilaminometilo, dimetilaminoetilo, dimetilaminopropilo, N-metil-N-etilaminoetilo y similares.

55 "Aminoalcoxi" significa un grupo $-OR-R'$ en donde R' es amino y R es alquileo como se define en el presente documento.

60 "Alquilsulfonilamido" significa un resto de la fórmula $-NR'SO_2-R$ en donde R es alquilo y R' es hidrógeno o alquilo.

"Aminocarboniloxialquilo" o "carbamilalquilo" significa un grupo de la fórmula $-R-O-C(O)-NR'R''$ en donde R es alquileo y R', independientemente cada R'' es hidrógeno o alquilo como se define en el presente documento.

65 "Alquinilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-R'$ en donde R es alquileo y R' es alquinilo como se define en

el presente documento.

"Arilo" significa un resto hidrocarburo aromático cíclico monovalente que consiste en un anillo aromático mono, bi o tricíclico. El grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero sin limitación, fenilo, naftilo, fenantrilo, fluorenilo, indenilo, pentalenilo, azuleno, oxidifenilo, bifenilo, metilendifenilo, aminodifenilo, difenilsulfidilo, difenilsulfonilo, difenilisopropilidenilo, benzodioxanilo, benzofuranilo, benzodioxililo, benzopiranilo, benzoxazinilo, benzoxazinonilo, benzopiperadinilo, benzopiperazinilo, benzopirrolidinilo, benzomorfolinilo, metilendioxifenilo, etilendioxifenilo y similares, los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos como se define en el presente documento.

"Aralalquilo" y "Aralquilo", que pueden usarse de forma intercambiable, significa un radical $-R^aR^b$ en donde R^a es un grupo alquileo y R^b es un grupo arilo como se define en el presente documento; *por ejemplo*, fenilalquilos, tales como bencilo, feniletilo, 3-(3-clorofenil)-2-metilpentilo y similares, son ejemplos de arilalquilo.

"Ariilsulfonilo" significa un grupo de la fórmula $-SO_2-R$ en donde R es arilo como se define en el presente documento.

"Ariloxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R$ en donde R es arilo como se define en el presente documento.

"Aralquiloxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-R'$ en donde R es alquileo y R' es arilo como se define en el presente documento.

"Carboxi" o "hidroxicarbonilo", que pueden usarse de forma intercambiable, significan un grupo de fórmula $-C(O)-OH$.

"Cianoalquilo" " significa un resto de la fórmula $-R'-R''$, en donde R' es alquileo como se define en el presente documento y R'' es ciano o nitrilo.

"Cianoalquilo" significa un resto carbocíclico saturado monovalente que consiste en anillos mono o bicíclicos. Los cicloalquilos particulares están sin sustituir o sustituidos con alquilo. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. A menos que se defina de otro modo, el cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, en donde cada sustituyente es independientemente hidroxilo, alquilo, alcoxi, halo, haloalquilo, amino, monoalquilamino o dialquilamino. Los ejemplos de restos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, incluyendo derivados parcialmente insaturados (cicloalqueno) de los mismos.

"Cicloalquilalquilo" significa un resto de la fórmula $-R'-R''$, en donde R' es alquileo y R'' es cicloalquilo como se define en el presente documento.

"Cicloalquilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-R'$ en donde R es alquileo y R' es cicloalquilo como se define en el presente documento.

"Heteroarilo" significa un radical monocíclico o bicíclico de 5 a 12 átomos de anillo que tiene al menos un anillo aromático que contiene uno, dos o tres heteroátomos en el anillo seleccionados entre N, O o S, siendo el resto de los átomos en el anillo C, entendiendo que el punto de unión del radical heteroarilo será en un anillo aromático. El anillo de heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de restos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, imidazolilo opcionalmente sustituido, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirazinilo, tienilo, benzotienilo, tiofenilo, furanilo, piranilo, piridilo, pirrolilo, pirazolilo, pirimidilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzofurilo, benzotiofenilo, benzotipiranilo, benzoimidazolilo, benzooxazolilo, benzooxadiazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzopiranilo, indolilo, isoindolilo, triazolilo, triazinilo, quinoxalinilo, purinilo, quinazolinilo, quinolizínilo, naftiridinilo, pteridinilo, carbazolilo, azepinilo, diazepinilo, acridinilo y similares, cada uno de los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos como se define en el presente documento.

"Heteroarilalquilo" o "heteroaralquilo" significa un grupo de fórmula $-R-R'$ en donde R es alquileo y R' es heteroarilo como se define en el presente documento.

"Heteroarilsulfonilo" significa un grupo de la fórmula $-SO_2-R$ en donde R es heteroarilo como se define en el presente documento.

"Heteroariloxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R$ en donde R es heteroarilo como se define en el presente documento.

"Heteroaralquiloxi" significa un grupo de la fórmula $-O-R-R'$ en donde R es alquileo y R' es heteroarilo como se define en el presente documento.

Los términos "halo", "halógeno" y "haluro", que pueden usarse de forma intercambiable, se refieren a un sustituyente flúor, cloro, bromo o yodo.

"Haloalquilo" significa alquilo como se define en el presente documento en el que uno o más hidrógenos están sustituidos por halógenos iguales o diferentes. Los haloalquilos a modo de ejemplo incluyen $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CCl}_3$, perfluoroalquilo (por ejemplo, $-\text{CF}_3$) y similares.

5 "Haloalcoxi" significa un resto de la fórmula $-\text{OR}$, en donde R es un resto haloalquilo como se define en el presente documento. Un haloalcoxi a modo de ejemplo es difluorometoxi.

"Heterocicloamino" significa un anillo saturado en el que al menos un átomo de anillo es N, NH o N-alquilo y los restantes átomos de anillo forman un grupo alquileo.

10 "Heterociclilo" significa un resto saturado monovalente, que consiste en uno a tres anillos, que incorporan uno, dos o tres o cuatro heteroátomos (elegidos entre nitrógeno, oxígeno o azufre). El anillo de heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de restos heterociclilo incluyen, pero sin limitación, piperidinilo opcionalmente sustituido, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, azepinilo, pirrolidinilo, azetidínilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrofuranoilo, oxetanilo y similares. Tal heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento.

"Heterociclilalquilo" significa un resto de la fórmula $-\text{R}-\text{R}'$ en donde R es alquileo y R' es heterociclilo como se define en el presente documento.

20 "Heterocicliloxi" significa un resto de fórmula $-\text{OR}$ en donde R es heterociclilo como se define en el presente documento.

"Heterociclilalcoxi" significa un resto de la fórmula $-\text{OR}-\text{R}'$ en donde R es alquileo y R' es heterociclilo como se define en el presente documento.

"Heterociclilsulfonilo" significa un grupo de fórmula $-\text{SO}_2-\text{R}$ en donde R es heterociclilo como se define en el presente documento.

30 "Hidroxi-alcoxi" significa un resto de la fórmula $-\text{OR}$ en donde R es hidroxialquilo como se define en el presente documento.

"Hidroxi-alquilamino" significa un resto de la fórmula $-\text{NR}-\text{R}'$ en donde R es hidrógeno o alquilo y R' es hidroxialquilo como se define en el presente documento.

35 "Hidroxi-alquilaminoalquilo" significa un resto de la fórmula $-\text{R}-\text{NR}'-\text{R}''$ en donde R es alquileo, R' es hidrógeno o alquilo, y R'' es hidroxialquilo como se define en el presente documento.

40 "Hidroxicarbonilalquilo" o "carboxialquilo" significa un grupo de la fórmula $-\text{R}-(\text{CO})-\text{OH}$ en donde R es alquileo como se define en el presente documento.

"Hidroxicarbonilalcoxi" significa un grupo de la fórmula $-\text{O}-\text{R}-\text{C}(\text{O})-\text{OH}$ en donde R es alquileo como se define en el presente documento.

45 "Hidroxi-alquiloalquilo" o "hidroxialcoxicarbonilalquilo" significa un grupo de fórmula $-\text{R}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{R}-\text{OH}$ en donde cada R es alquileo y puede ser el mismo o diferente.

"Hidroxi-alquilo" significa un resto alquilo como se define en el presente documento, sustituido con uno o más, por ejemplo, uno, dos o tres grupos hidroxilo, siempre que el mismo átomo de carbono no porte más de un grupo hidroxilo. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitación, hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 3-hidroxipropilo, 1-(hidroximetil)-2-metilpropilo, 2-hidroxibutilo, 3-hidroxibutilo, 4-hidroxibutilo, 2,3-dihidroxipropilo, 2-hidroxil-1-hidroximetiletilo, 2,3-dihidroxibutilo, 3,4-dihidroxibutilo y 2-(hidroximetil)-3-hidroxipropilo

50 "Hidroxicicloalquilo" significa un resto cicloalquilo como se define en el presente documento en donde uno, dos o tres átomos de hidrógeno en el radical cicloalquilo se han reemplazado con un sustituyente hidroxilo. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitación, 2-, 3- o 4-hidroxiciclohexilo y similares.

"Alcoxi-hidroxi-alquilo" e "hidroxialcoxi-alquilo", que pueden usarse de forma intercambiable, significan un alquilo como se define en el presente documento que se sustituye al menos una vez con hidroxilo y al menos una vez con alcoxi. Por lo tanto, "alcoxi-hidroxi-alquilo" e "hidroxialcoxi-alquilo" abarcan, por ejemplo, 2-hidroxil-3-metoxi-propan-1-ilo y similares.

60 "Urea" o "ureido" significa un grupo de la fórmula $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})-\text{NR}''$ en donde R', R'' y R''' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo.

65 "Carbamato" significa un grupo de la fórmula $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{NR}'\text{R}''$ en donde R' y R'' cada uno independientemente es

hidrógeno o alquilo.

"Carboxi" significa un grupo de la fórmula $-O-C(O)-OH$.

- 5 "Sulfonamido" significa un grupo de la fórmula $-SO_2-NR'R''$ en donde R', R'' y R''' cada uno independientemente es hidrógeno o alquilo.

- 10 "Opcionalmente sustituido" cuando se usa en asociación con un resto "arilo", fenilo", "heteroarilo", "cicloalquilo" o "heterociclilo" significa que tal resto puede estar sin sustituir (es decir, todas las valencias abiertas están ocupadas por un átomo de hidrógeno) o sustituido con grupos específicos como se indica en el presente documento.

- 15 "Grupo saliente" significa el grupo con el significado asociado convencionalmente con dicho término en química orgánica sintética, es decir, un átomo o grupo desplazable en condiciones de reacción de sustitución. Los ejemplos de grupos salientes incluyen, pero sin limitación, halógeno, alcano o arilenosulfonilo, tal como metanosulfonilo, etanosulfonilo, tiometilo, bencenosulfonilo, tosilo y tienilo, dihalofosfinoilo, bencilo opcionalmente sustituido, isopropilo, acilo y similares.

- 20 "Modulador" significa una molécula que interactúa con una diana. Las interacciones incluyen, pero sin limitación, agonista, antagonista y similares, como se define en el presente documento.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el suceso o circunstancia descrito posteriormente puede pero no necesita ocurrir, y que la descripción incluye casos en los que ocurre el evento o circunstancia y los casos en los que no ocurre.

- 25 "Enfermedad" y "estado de enfermedad" significa cualquier enfermedad, afección, síntoma, trastorno o indicación.

- 30 "Disolvente orgánico inerte" o "disolvente inerte" significa que el solvente es inerte en las condiciones de la reacción que se está describiendo en conjunción con este, incluyendo, por ejemplo, benceno, tolueno, acetonitrilo, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, cloroformo, cloruro de metileno o diclorometano, dicloroetano, éter dietílico, acetato de etilo, acetona, metil etil cetona, metanol, etanol, propanol, isopropanol, *tert*-butanol, dioxano, piridina y similares. A menos que se especifique lo contrario, los disolventes usados en las reacciones de la presente invención son disolventes inertes.

- 35 "Farmacéuticamente aceptable" significa que es útil para preparar una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente o de otro modo no deseada e incluye que es aceptable para uso farmacéutico veterinario y también humano.

- 40 "Sales farmacéuticamente aceptables" de un compuesto significan sales que son farmacéuticamente aceptables, como se definen en el presente documento y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto parental.

- 45 Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de disolvente (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se define en el presente documento, de la misma sal de adición de ácido.

- 50 "Grupo protector" o "grupo de protección" significa el grupo que bloquea selectivamente uno sitio reactivo en un compuesto multifuncional de tal forma que puede llevarse a cabo una reacción química de manera selectiva en otro sitio reactivo no protegido en el significado asociado convencionalmente con éste en la química sintética. Determinados procesos de esta invención se basan en grupos protectores para bloquear átomos reactivos de nitrógeno y/o oxígeno presentes en los reactivos. Por ejemplo, las expresiones "grupo amino protector" y "grupo nitrógeno protector" se usan de manera intercambiable en el presente documento y se refieren a aquellos grupos orgánicos que se pretende que protejan al átomo de nitrógeno frente a reacciones no deseadas durante los procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de nitrógeno a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, trifluoroacetilo, acetamido, bencilo (Bn), benciloxicarbonilo (carbobencilo, CBZ), p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo (BOC) y similares. El experto en la técnica sabrá cómo seleccionar un grupo para facilitar la retirada y por la capacidad para soportar las reacciones posteriores.

- 60 "Solvatos" significa formas de adición de disolventes que contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de disolvente. Algunos compuestos tienen una tendencia a atrapar una proporción molar fija de moléculas de disolvente en el estado sólido cristalino, formando de este modo un solvato. Si el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato, cuando el disolvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman mediante la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las que el agua mantiene su estado molecular como H_2O , siendo capaz tal combinación de formar un hidrato o más.

- 65 "Enfermedad de Parkinson" significa un trastorno degenerativo del sistema nervioso central que perjudica las habilidades motoras, habla, y/o función cognitiva. Los síntomas de la enfermedad de Parkinson pueden incluir, por

ejemplo, rigidez muscular, temblor, ralentización del movimiento físico (bradicinesia) y pérdida del movimiento físico (acinesia).

5 "Enfermedad de cuerpos de Lewy" también llamada "demencia de cuerpo de Lewy", enfermedad por cuerpos de Lewy difusos, enfermedad cortical de cuerpos de Lewy, significa un trastorno neurodegenerativo caracterizado anatómicamente por la presencia de cuerpos de Lewy en el cerebro.

10 "Sujeto" significa mamíferos y no mamíferos. Mamífero significa cualquier miembro de la clase de los mamíferos incluyendo, pero sin limitación, seres humanos; primates no humanos, tales como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja, tales como ganado, caballos, ovejas, cabras y cerdos; animales domésticos, tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y conejillos de indias; y similares. Los ejemplos de no mamíferos incluyen, pero sin limitación, pájaros y similares. El término "sujeto" no indica una edad o sexo en particular.

15 "Cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar un estado de enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para el estado de enfermedad. La "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, del estado de enfermedad que se esté tratando, la gravedad o la enfermedad tratada, la edad y estado de salud relativo del paciente, la vía y forma de administración, el juicio del médico tratante o practicante veterinario y otros factores.

20 Las expresiones "aquellos definidos anteriormente" y "aquellos definidos en el presente documento" cuando se refieren a una variable incorporan por referencia la definición amplia de la variable así como definiciones particulares, en caso de haberlas.

25 "Tratar" o "tratamiento" de un estado de enfermedad incluye, entre otras cosas, inhibir el estado de enfermedad, es decir, detener el desarrollo del estado de la enfermedad o sus síntomas clínicos y/o aliviar el estado de enfermedad, es decir, provocar la regresión temporal o permanente de la patología o de sus síntomas clínicos.

30 Los términos "tratar", "poner en contacto" y "hacer reaccionar" cuando se refieren a una reacción química significan añadir o mezclar dos o más reactivos en las condiciones adecuadas para producir el producto indicado y/o deseado. Debe apreciarse que la reacción que produce el producto indicado y/o deseado puede no ser el necesariamente el resultado de la combinación de dos reactivos que se añadiesen inicialmente, es decir, puede haber uno o más intermedios que se producen en la mezcla que finalmente conduce a la formación del producto indicado y/o deseado.

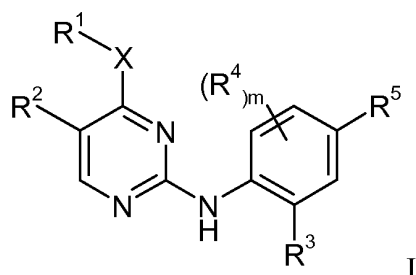
35 "C₁₋₆" junto con cualquier otro término en el presente documento se refiere al intervalo de uno a seis carbonos, es decir 1, 2, 3, 4, 5 o 6 carbono, "C₂₋₆" se refiere al intervalo de dos carbono a seis carbonos, es decir 2, 3, 4, 5 o 6 carbono, "C₃₋₆" se refiere al intervalo de un carbono a seis carbonos, es decir 3, 4, 5 o 6 carbonos.

40 Nomenclatura y Estructuras

En general, la nomenclatura y los nombres químicos usados en esta Solicitud se basan en ChemBioOffice™ por CambridgeSoft™. Cualquier valencia abierta que aparezca en un átomo de carbono, oxígeno, azufre o nitrógeno en las estructuras en el presente documento indica la presencia de un átomo de hidrógeno, a menos que se indique otra cosa. Cuando se muestra un anillo de heteroarilo que contiene nitrógeno con una valencia abierta en un átomo de nitrógeno, y variables tales como R^a, R^b o R^c se muestran en el anillo de heteroarilo, tales variables pueden estar enlazadas o unidas al nitrógeno de valencia abierta. Cuando existe un centro quiral en una estructura pero no se muestra estereoquímica específica para el centro quiral, ambos enantiómeros asociados con el centro quiral están abarcados por la estructura. En los casos donde una estructura mostrada en el presente documento puede existir en múltiples formas tautoméricas, todos dichos tautómeros están abarcados por la estructura. Los átomos representados en las estructuras en el presente documento pretenden abarcar todos los isótopos de origen natural de dichos átomos. Por lo tanto, por ejemplo, los átomos de hidrógeno representados en el presente documento pretenden incluir deuterio y tritio, y los átomos de carbono pretenden incluir los isótopos C¹³ y C¹⁴.

55 Compuestos de la invención

La invención proporciona compuestos de la fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

5 m es de 0 a 3;

X es: $-NR^a$ -, $-O$ -; o $-S(O)_r$ - en donde r es de 0 a 2 y R^a es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

10 R^1 es: alquilo C_{1-6} ;

R^2 es: halo; alcoxi C_{1-6} ; ciano; alquínilo C_{2-6} ; alquénilo C_{2-6} ; halo-alquilo C_{1-6} ; halo-alcoxi C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-6} en donde la porción de cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituida con alquilo C_{1-6} ; cicloalquil C_{3-6} -alquilo C_{1-6} en donde la porción de cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituida con alquilo C_{1-6} ; tetrahidrofuranilo; tetrahidrofuranilo-alquilo C_{1-6} ; acetilo; oxetanilo; u oxetan-alquilo C_{1-6} ;

15 R^3 y R^4 cada uno independientemente es: halo; alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; cicloalquiloxi C_{3-6} ; halo-alquilo C_{1-6} ; o halo-alcoxi C_{1-6} ;

20 o R^3 y R^4 junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un anillo de cinco o seis miembros que incluye opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S, estando el anillo opcionalmente sustituido una o más veces con R^6 ;

R^5 es: alquil-sulfonilo C_{1-6} ; o ciano;

25 R^6 es: alquilo C_{1-6} ; halo; halo-alquilo C_{1-6} ; u oxo.

En ciertas realizaciones de fórmula I,

30 m es de 0 a 1;

X es: $-NH$ - u $-O$ -;

R^1 es: alquilo C_{1-6} ;

R^2 es: halo; ciano o halo-alquilo C_{1-6} ;

R^3 y R^4 cada uno independientemente es: halo; alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} ;

35 R^5 es: alquil-sulfonilo C_{1-6} ; ciano;

R^6 es: oxo.

En ciertas realizaciones de fórmula I, R^2 es acetilo.

40 En ciertas realizaciones de fórmula I, m es de 0 a 2.

En ciertas realizaciones de fórmula I, m es 0 o 1.

En ciertas realizaciones de fórmula I, m es 0.

45 En ciertas realizaciones de fórmula I, m es 1.

En ciertas realizaciones de fórmula I, r es 0.

En ciertas realizaciones de fórmula I, r es 2.

50

En ciertas realizaciones de fórmula I, X es $-NR^a$ - u $-O$ -.

En ciertas realizaciones de fórmula I, X es $-NR^a$.

55 En ciertas realizaciones de fórmula I, X es $-O$ -.

En ciertas realizaciones de fórmula I, X es $-S(O)_n$ -.

- En ciertas realizaciones de fórmula I, X es -NH- u -O-.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R^a es hidrógeno.
- 5 En ciertas realizaciones de fórmula I, R^a es alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R¹ es: metilo; etilo; n-propilo; isopropilo; o isobutilo.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R¹ es metilo o etilo.
- 10 En ciertas realizaciones de fórmula I, R¹ es metilo.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R¹ es etilo.
- 15 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; alcoxi C₁₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; halo-alcoxi C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₆ en donde la porción de cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituida con alquilo C₁₋₆; cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆ en donde la porción de cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituida con alquilo C₁₋₆; tetrahidrofuranilo; tetrahidrofuranoil-alquilo C₁₋₆; oxetanilo; u oxetan-alquilo C₁₋₆.
- 20 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; alcoxi C₁₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; ciano; alquinilo C₂₋₆; alqueno C₂₋₆; cicloalquilo C₃₋₆; o cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; alcoxi C₁₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; ciano; cicloalquilo C₃₋₆; o cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆.
- 25 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; alcoxi C₁₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₆; o cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; halo-alquilo C₁₋₆; o ciano.
- 30 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es: halo; o halo-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es halo.
- 35 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es alcoxi C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es halo-alcoxi C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es halo-alquilo C₁₋₆.
- 40 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es cicloalquilo C₃₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆.
- 45 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es tetrahidrofuranoílo.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es tetrahidrofuranoil-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es oxetanilo.
- 50 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es oxetan-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es halo, trifluorometilo o ciano.
- 55 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es cloro, trifluorometilo o ciano.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es cloro o trifluorometilo.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es flúor, cloro o bromo.
- 60 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es cloro.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es flúor.
- 65 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es bromo.

- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es trifluorometilo.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es metoxi.
- 5 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es ciano.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es alquínilo C₂₋₆.
- 10 En ciertas realizaciones de fórmula I, R² es alquénilo C₂₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es: alquilo C₁₋₆;
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es halo.
- 15 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es alcoxi C₁₋₆.
- 20 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es halo o alcoxi C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es cicloalquiloxi C₃₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es halo-alquilo C₁₋₆.
- 25 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es halo-alcoxi C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es halo o metoxi.
- 30 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es flúor, cloro o metoxi.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es flúor o cloro.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es metoxi.
- 35 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es metilo
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es cloro.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ es flúor.
- 40 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es: alquilo C₁₋₆;
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es halo.
- 45 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es alcoxi C₁₋₆.
- 50 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es halo-alquilo C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es halo-alcoxi C₁₋₆.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es halo o metoxi.
- 55 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es R⁴ es flúor, cloro, metilo o metoxi.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es flúor, cloro o metoxi.
- 60 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es flúor o cloro.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es metoxi.
- En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es metilo
- 65 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es cloro.

En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es flúor.

En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁴ es cicloalquiloxi C₃₋₆.

5 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ y R⁴ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo de cinco o seis miembros que incluye opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S, estando el anillo opcionalmente sustituido una o más veces con R⁶.

10 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están unidos forman un anillo de seis miembros que incluye dos átomos de oxígeno separados por un grupo etileno (es decir, R³ y R⁴ forman juntos un grupo etileno-dioxi).

15 En ciertas realizaciones de fórmula I, R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están unidos forman un anillo de cinco miembros que incluye dos átomos de oxígeno separados por un grupo metileno (es decir, R³ y R⁴ forman juntos un grupo metileno-dioxi).

En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁵ es alquil-sulfonilo C₁₋₆.

20 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁵ es alquil-sulfonilo C₁₋₆ o ciano.

En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁵ es ciano.

En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁵ es metanosulfonilo.

25 En ciertas realizaciones de fórmula I, R⁵ es: metanosulfonilo; o ciano.

En ciertas realizaciones de fórmula I, el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en

30 N2-(2-Metoxi-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-(2-metoxi-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina, 2-Fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo, 3-Metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo, 4-(5-Cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-3-metoxibenzonitrilo, (2-Cloro-4-metanosulfonil-fenil)-(5-cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-amina, N2-(2-Cloro-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-(2-cloro-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo, 5-Metoxi-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo, N2-(5-Fluoro-4-metanosulfonil-2-metoxi-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N2-(2-Isopropoxi-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-N4-metil-pirimidina-2,4-diamina, (5-Cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-amina, N2-[2-(2-Fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N2-(5-Cloro-4-metanosulfonil-2-metoxi-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N2-(4-Metanosulfonil-2-metoxi-5-metil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N4-etil-N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, N2-(4-(etilsulfonil)-2-metoxi-5-metilfenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina y N4-etil-N2-(8-(metilsulfonil)-2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-5-il)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina.

45 En donde cualquiera de R¹, R², R³, R⁴ y R⁵, es alquilo o contiene un resto alquilo, tal alquilo puede ser alquilo inferior, es decir alquilo C₁-C₆ y en muchas realizaciones puede ser alquilo C₁-C₄.

50 La invención también se refiere a una composición que comprende: un vehículo farmacéuticamente aceptable; y un compuesto como se describe en el presente documento.

La invención también se refiere a un compuesto de fórmula I como se describe en el presente documento para un uso en la prevención o tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

55 La invención también se refiere a una composición farmacéutica como se describe en el presente documento, en donde es útil para la prevención o tratamiento de la enfermedad de Parkinson

La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula I como se describe en el presente documento para la preparación de un medicamento para la prevención o tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

60 La enfermedad puede ser una enfermedad neurodegenerativa, tal como la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington o demencia de cuerpos de Lewy.

65 La enfermedad puede ser un trastorno del SNC, tal como la enfermedad de Alzheimer y la discinesia inducida por L-Dopa.

La enfermedad puede ser un cáncer o un trastorno proliferativo tal como cáncer de riñón, mama, próstata, sangre, papilar o pulmón, leucemia mielógena aguda o mieloma múltiple.

5 La enfermedad puede ser una enfermedad inflamatoria, tal como lepra, enfermedad de Crohn, esclerosis lateral amiotrófica, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante.

Los compuestos representativos de acuerdo con los métodos de la invención se muestran en los ejemplos experimentales a continuación.

10 Síntesis

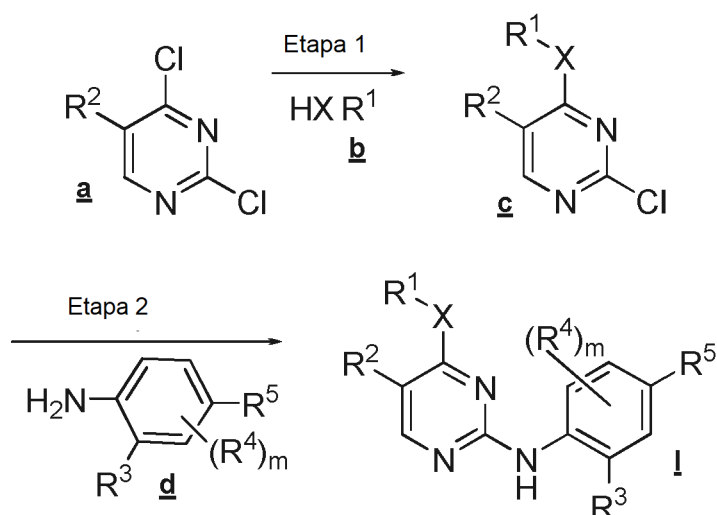
Los compuestos de la presente invención pueden producirse mediante varios métodos ilustrados en los esquemas de reacción sintética ilustrativos mostrados y descritos a continuación.

15 Los materiales de partida y reactivos usados en la preparación de estos compuestos están o bien disponibles a través de proveedores comerciales, tales como Aldrich Chemical Co., o se preparan mediante métodos conocidos para los expertos en la materia siguiendo procedimientos expuestos en referencias como Fieser y Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: Nueva York, 1991, Volúmenes 1-15; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, Volúmenes 1-5 y suplementos, y Organic Reactions, Wiley & Sons: Nueva York, 20 1991, Volúmenes 1-40. Los siguientes esquemas de reacción sintética son meramente ilustrativos de algunos métodos mediante los cuales pueden sintetizarse los compuestos de la presente invención y pueden hacerse diversas modificaciones a estos esquemas de reacción sintéticos y se sugerirán a los expertos en la materia habiéndose referido a la descripción contenida en esta Solicitud.

25 Los materiales de partida e intermedios de los esquemas de reacción sintéticos pueden aislarse y purificarse si se desea usando técnicas convencionales, incluyendo, pero sin limitación, filtración, destilación, cristalización, cromatografía y similares. Tales materiales pueden caracterizarse usando medios convencionales, incluyendo constantes físicas y datos espectrales.

30 A menos que se especifique lo contrario, las reacciones descritas en el presente documento pueden realizarse en una atmósfera inerte a presión atmosférica, en un intervalo de temperatura de reacción de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo, de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 125 °C o convenientemente a temperatura normal (o ambiente), por ejemplo, aproximadamente 20 °C.

35 A continuación, el Esquema A ilustra un procedimiento sintético usable para preparar compuestos específicos de la fórmula I o de la fórmula II, en donde X, m, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se definen en el presente documento.



ESQUEMA A

40 En la etapa 1 del Esquema A, se hace reaccionar el compuesto de dicloropirimidina a con el reactivo b para proporcionar el compuesto de pirimidina c. La reacción de la etapa 1 puede tener lugar en condiciones de disolvente polar. En realizaciones de la invención en donde X es -O- (es decir, el reactivo b es un alcohol), la reacción de la etapa 1 puede realizarse en presencia de base.

45 En la etapa 2, el compuesto de pirimidina c experimenta una reacción con el compuesto de anilina d para proporcionar un compuesto de fenilaminopirimidina de fórmula I de acuerdo con la invención. La reacción de la etapa 2

puede tener lugar en un disolvente prótico polar y en presencia de un ácido, tal como HCl. Muchos compuestos de la anilina d están disponibles en el mercado o pueden prepararse fácilmente a partir de nitrobenzenos como se muestra en los Ejemplos siguientes.

- 5 Son posibles muchas variaciones en el procedimiento del Esquema A y serán evidentes para los expertos en la materia. Los detalles específicos para producir compuestos de la invención se describen en los ejemplos más adelante.

Administración y composición farmacéutica

10 La invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la presente invención, o un isómero individual, mezcla racémica o no racémica de isómeros o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos y/o profiláctico.

15 En general, los compuestos de la invención se administrarán en una cantidad terapéuticamente eficaz mediante cualquiera de los modos de administración aceptados para agentes que tienen utilidades similares. Los intervalos de dosificación son normalmente 1-500 mg al día, por ejemplo, 1-100 mg diarios, y más preferentemente 1-30 mg diarios, dependiendo de numerosos factores, tales como la gravedad de la enfermedad que se esté tratando, la edad y estado de salud relativo del paciente, la potencia del compuesto usado, la vía y forma de administración, la indicación hacia la cual se dirige la administración, y las preferencias y experiencia del médico involucrado. Un experto en la materia de tratar tales enfermedades será capaz, sin experimentación innecesaria y apoyándose en el conocimiento personal y en la divulgación de esta aplicación, de determinar una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos de la presente invención para una enfermedad dada.

25 Los compuestos de la invención pueden administrarse como una formulación farmacéutica que incluye aquellas adecuadas para administración oral (incluyendo bucal y sublingual), rectal, nasal, tópica, pulmonar, vaginal o parenteral (incluyendo intramuscular, intraarterial, intratecal, subcutánea e intravenosa) o en una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación. Un modo particular de administración es generalmente oral, usando una pauta de dosificación diaria conveniente que puede ajustarse de acuerdo con el grado de la afección.

30 Un compuesto o compuestos de la invención, junto con uno o más adyuvantes convencionales, vehículos o diluyentes, puede ponerse en forma de composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria pueden estar comprendidas de ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales y las formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del principio activo conmensurada con el intervalo de dosis diaria previsto que se va a emplear. Las composiciones farmacéuticas pueden emplearse como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas rellenas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida o líquidos, tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas para uso oral; o en forma de supositorios para administración rectal o vaginal; o en forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral. Las formulaciones que contienen un (1) miligramo de principio activo o, de manera más amplia, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente cien (100) miligramos, por comprimido, son por consiguiente formas de dosificación unitaria representativas.

45 Los compuestos de la invención pueden formularse en una amplia variedad de formas de dosificación de administración oral. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación comprenden un compuesto o compuestos de la presente invención o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como componente activo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, obleas, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, solubilizantes, lubricantes; agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes desintegrantes de comprimidos o un material encapsulante. En polvos, el vehículo es generalmente un sólido finamente dividido que es una mezcla con el componente activo finamente dividido. En comprimidos, el componente activo está generalmente mezclado con el vehículo que tiene la capacidad aglutinante necesaria en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados. Los polvos y comprimidos pueden contener de aproximadamente un uno (1) a aproximadamente un setenta (70) por ciento de compuesto activo. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de punto de fusión bajo, manteca de cacao y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material encapsulante como vehículo, proporcionando una cápsula en la que el componente activo, con o sin vehículos, está rodeado por un vehículo, que está en asociación con este. De forma análoga, se incluyen obleas y pastillas para chupar. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, obleas y pastillas para chupar pueden estar en formas sólidas adecuadas para dosificación oral.

65 Otras formas adecuadas para administración oral incluyen preparaciones en forma líquida incluyendo emulsiones, jarabes, elixires, soluciones acuosas, suspensiones acuosas o preparaciones en forma sólida que están pensadas

para convertirse en preparaciones en forma líquida poco antes de su uso. Las emulsiones pueden prepararse en soluciones, por ejemplo, en soluciones de propilenglicol acuoso o pueden contener agentes emulsionantes, por ejemplo, tales como lecitina, monooleato de sorbitano o goma arábica. Las soluciones acuosas pueden prepararse disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromas, estabilizantes y agentes espesantes
 5 adecuados. Las suspensiones acuosas pueden prepararse dispersando en componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas sintéticas o naturales, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y otros agentes suspensores bien conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, y pueden contener, además del componente activo, agentes colorantes, aromatizantes, estabilizantes, tamponantes, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, solubilizantes y similares.

10 Los compuestos de la invención pueden formularse para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección, por ejemplo, inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en dosis unitarias en ampollas, jeringuillas precargadas, contenedores de infusión de pequeños volúmenes o multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar dichas formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, por ejemplo, soluciones en polietilenglicol acuoso. Los ejemplos de vehículos oleosos o no acuosos, diluyentes, disolventes o vehículos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo oleato de etilo), y pueden contener agentes de formulación, tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes o de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido mediante aislamiento aséptico de un sólido
 15 estéril o mediante liofilización a partir de una solución para su constitución antes de su uso con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos.

20 Los compuestos de la invención pueden formularse para administración tópica a la epidermis como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Las pomadas y las cremas pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes o gelificantes adecuados. Las lociones pueden formularse con base acuosa u oleosa y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agente de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes. Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden a los agentes activos en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que
 25 comprenden el principio activo en una base inerte como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un portedor líquido adecuado.

30 Los compuestos de la invención pueden formularse para administración como supositorios. Una cera de punto de fusión bajo, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao se funde primeramente y se dispersa el componente activo de manera homogénea, por ejemplo, mediante agitación. La mezcla homogénea fundida se vierte en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y solidificar.

35 Los compuestos de la invención pueden formularse para administración vaginal. Los pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen además del principio activo los vehículos conocidos en la técnica que sean adecuados.

40 Los compuestos objeto pueden formularse para administración nasal. Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal mediante medios convencionales, por ejemplo, con un gotero, pipeta o pulverizador. Las formulaciones pueden proporcionarse en forma monodosis o multidosis. En el último caso de un gotero o pipeta, esto puede lograrse por el paciente administrando un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto puede lograrse, por ejemplo, mediante una bomba de pulverización de atomización medidora.

45 Los compuestos de la invención pueden formularse para administración en aerosol, en particular para el tracto respiratorio, incluyendo administración intranasal. El compuesto tendrá generalmente un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo del orden de cinco (5) micrómetros o menos. Tal tamaño de partícula puede obtenerse por medios conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante micronización. El principio activo se proporciona en un paquete presurizado con un propulsor adecuado, tal como clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, o diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono u otro gas adecuado. El aerosol también puede contener de manera conveniente un tensioactivo, tal como lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse mediante una válvula medida. Como alternativa, los principios activos pueden proporcionarse en forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla de polvo del compuesto en una base de polvo adecuada, tal como lactosa, almidón, derivados de almidón, tal como hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP). El vehículo de polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo se presentará en forma de dosis unitaria, por
 50 ejemplo, en cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina o paquetes de blíster a partir de los cuales puede administrarse el polvo mediante un inhalador.

55 Cuando se desee, las formulaciones pueden prepararse con recubrimientos entéricos adaptados para administración de liberación sostenida o controlada del principio activo. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden formularse en dispositivos de dispensación de fármaco transdérmica o subcutánea. Estos sistemas de dispensación son ventajosos cuando es necesaria una liberación sostenida del fármaco y cuando es crítico la
 60

adhesión del paciente a la pauta de tratamiento. Los compuestos en sistemas de liberación transdérmica se acoplan frecuentemente a un soporte sólido adherido a la piel. El compuesto de interés también puede combinarse con un potenciador de la penetración, por ejemplo, Azona (1-dodecilazacicloheptan-2-ona). Los sistemas de dispensación de liberación sostenida se insertan por vía subcutánea en la capa subdérmica mediante cirugía o inyección. Los implantes subdérmicos encapsulan al compuesto en una membrana soluble a lípidos, por ejemplo, caucho de silicona o un polímero biodegradable, por ejemplo, ácido poliláctico.

Las preparaciones farmacéuticas pueden estar en formas de dosificación unitaria. En tal forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades adecuadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el paquete cantidades discretas de preparación, tales como comprimidos empaquetados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. También, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, comprimido, oblea o pastilla para chupar del mismo, o puede ser el número adecuado de cualquiera de estas formas empaquetadas.

Otros vehículos farmacéuticos y sus formulaciones se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, editado por E. W. Martin, Mack Publishing Company, 19ª Edición, Easton, Pensilvania. Las formulaciones farmacéuticas representativas que contienen un compuesto de la presente invención se describen más adelante.

Utilidad

Los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por LRRK2, incluyendo enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson, demencia de cuerpos de Lewy y enfermedad de Huntington, y para la mejora de la memoria cognitiva en general en sujetos que lo necesiten.

Ejemplos

Se proporcionan las siguientes preparaciones y ejemplos para permitir a los expertos en la materia entender y practicar la presente invención con mayor claridad. No deben considerarse como limitantes del alcance de la invención, sino simplemente como ilustrativas y representativas de la misma.

A menos que se indique otra cosa, todas las temperaturas incluyendo los puntos de fusión (es decir, PF) están en grados Celsius (°C). Debe apreciarse que la reacción que produce el producto indicado y/o deseado puede no ser el necesariamente el resultado de la combinación de dos reactivos que se añadiesen inicialmente, es decir, puede haber uno o más intermedios que se producen en la mezcla que finalmente conduce a la formación del producto indicado y/o deseado. Las siguientes abreviaturas pueden usarse en las Preparaciones y Ejemplos.

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOH Ácido acético

AIBN 2,2'-Azobis(2-metilpropionitrilo)

Atm. Atmósfera

(BOC)₂O dicarbonato de di-*terc*-butilo

DavePhos 2-Diciclohexilfosfino-2'-(N,N-dimetilamino)bifenilo

DCM Diclorometano/Cloruro de metileno

DIAD Azodicarboxilato de diisopropilo

DIPEA Diisopropiletilamina

DMAP 4-Dimetilaminopiridina

DME 1,2-Dimetoxietano

DMF *N,N*-Dimetilformamida

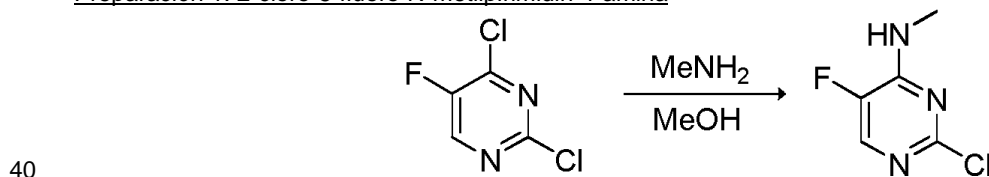
DMSO Sulfóxido de dimetilo

DPPF 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno

Et₂O Éter dietílico

	EtOH Etanol/Alcohol etílico
	EtOAc Acetato de etilo
5	HATU Hexafluorofosfato de metanaminio de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
	HBTU Hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
	HOBT 1-Hidroxibenzotriazol
10	HPLC Cromatografía líquida de alta presión
	RP HPLC Cromatografía líquida de alta presión de fase inversa
15	i-PrOH Isopropanol/alcohol isopropílico
	CLEM Cromatografía líquida/Espectrometría de masas
	MeOH Metanol/Alcohol metílico
20	MW Microondas
	NBS <i>N</i> -Bromosuccinimida
25	NMP 1-Metil-2-pirrolidinona
	PSI Libra por pulgada cuadrada
	TA Temperatura ambiente
30	TBDMS <i>tert</i> -Butildimetilsililo
	TFA Ácido trifluoroacético
35	THF Tetrahidrofurano
	TLC Cromatografía de capa fina

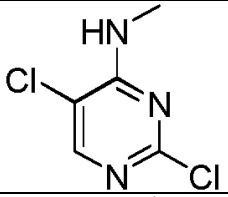
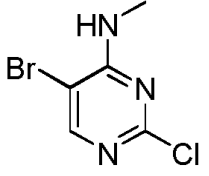
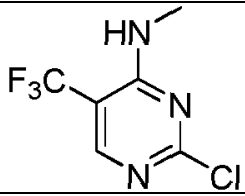
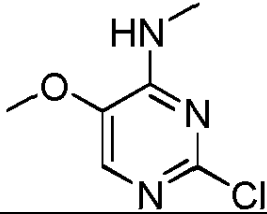
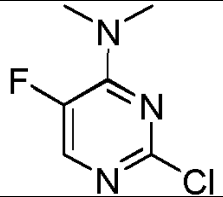
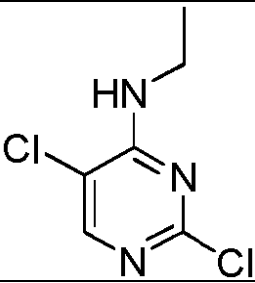
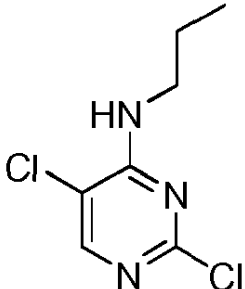
Preparación 1: 2-cloro-5-fluoro-*N*-metilpirimidin-4-amina

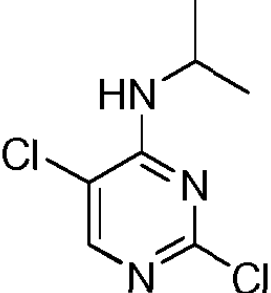
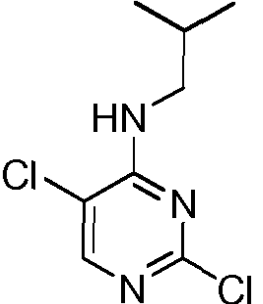
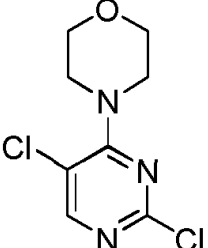
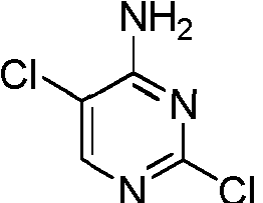
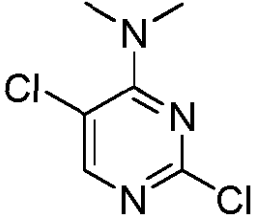
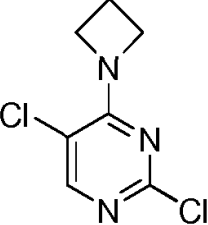
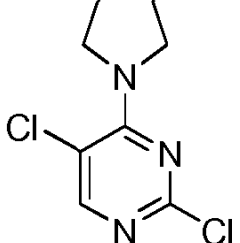


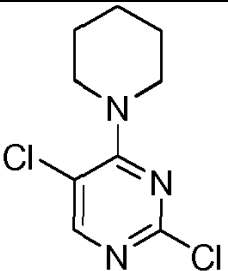
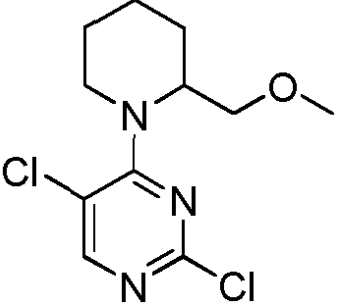
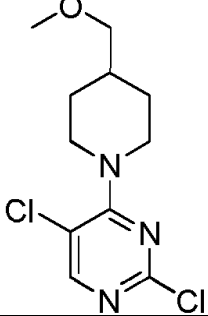
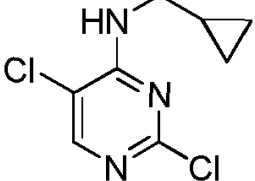
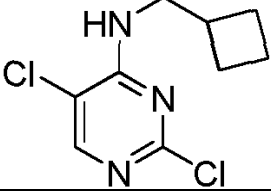
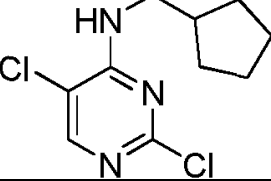
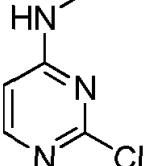
45 A un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con una barra agitadora, se le añadieron 9,0 g de 5-fluoro-2,4-dicloropirimidina, 40 ml de metanol y 15 ml de metilamina 8 M en etanol. La reacción se calentó (exotérmico suave) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~30 minutos. Un control por TLC (1:1 de EtOAc: heptano) y CLEM mostró la reacción completa. La reacción se concentró para dar 9,77 g de material en bruto que se purificó en una columna de sílice que ejecutó un gradiente de MeOH del 1 % al 10 % en DCM durante 35 minutos para dar 6,77 g de 2-cloro-5-fluoro-*N*-metilpirimidin-4-amina pura.

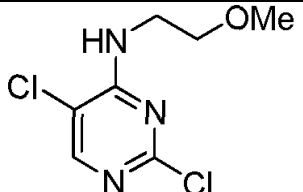
50 Se usó el mismo método para preparar los compuestos mostrados en la Tabla 1 a continuación, usando las 2,4-dicloropirimidinas y aminas sustituidas disponibles en el mercado apropiadas.

Tabla 1

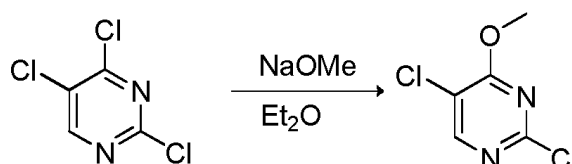
1	2-cloro-5-cloro-N-metilpirimidin-4-amina	
2	2-cloro-5-bromo-N-metilpirimidin-4-amina	
3	2-cloro-5-trifluorometil-N-metilpirimidin-4-amina	
6	2-cloro-5-metoxi-N-metilpirimidin-4-amina	
8	2-cloro-5-fluoro-N,N-dimetilpirimidin-4-amina	
9	2-cloro-5-cloro-N-etilpirimidin-4-amina	
10	2-cloro-5-cloro-N-propilpirimidin-4-amina	

11	2-cloro-5-cloro-N-isopropilpirimidin-4-amina	
12	2-cloro-5-cloro-N-isobutilpirimidin-4-amina	
13	4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)morfolina	
14	2,5-dicloropirimidin-4-amina	
15	2,5-dicloro-N,N-dimetilpirimidin-4-amina	
16	4-(azetidin-1-il)-2,5-dicloropirimidina	
17	2,5-dicloro-4-(pirrolidin-1-il)pirimidina	

18	2,5-dicloro-4-(piperidin-1-il)pirimidina	
19	2,5-dicloro-4-(2-(metoximetil)piperidin-1-il)pirimidina	
20	2,5-dicloro-4-(4-(metoximetil)piperidin-1-il)pirimidina	
21	2,5-dicloro-N-(ciclopropilmetil)pirimidin-4-amina	
22	2,5-dicloro-N-(ciclobutilmetil)pirimidin-4-amina	
23	2,5-dicloro-N-(ciclopentilmetil)pirimidin-4-amina	
24	2-cloro-N-metilpirimidin-4-amina	

25	2,5-dicloro-N-(2-metoxietil)pirimidin-4-amina	
----	---	---

Preparación 2: 2,5-dicloro-4-metoxipirimidina



5

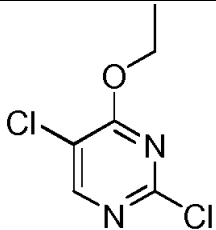
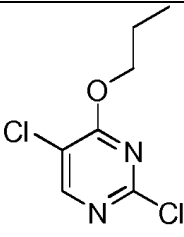
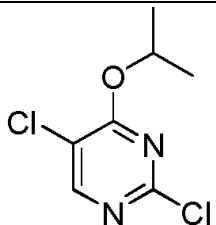
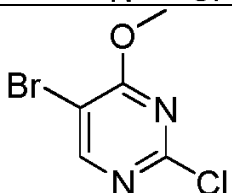
A un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con una barra agitadora se le añadieron 1 g de 5-cloro-2,4-dicloropirimidina y 15 ml de éter dietílico. La mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y después se añadió lentamente 1 equivalente de metóxido sódico en metanol (preparado a partir de hacer reaccionar 120 mg de sodio con 4 ml de metanol a temperatura ambiente). La reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente y se controló por CLEM. El precipitado de color blanco se filtró y el sólido se lavó con metanol frío. Después de secarse, se obtuvieron 0,98 g de 2,5-dicloro-4-metoxipirimidina y este material se usó sin purificación adicional.

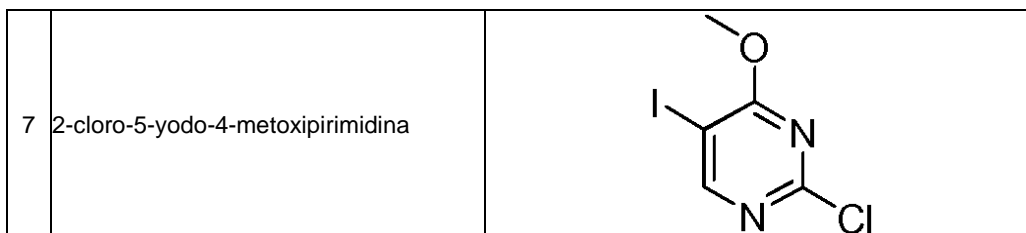
10

Se usó el mismo método para preparar los compuestos mostrados en la Tabla 2 a continuación, usando los alcoholes disponibles en el mercado apropiados y las 2,4-dicloropirimidinas apropiadamente sustituidas.

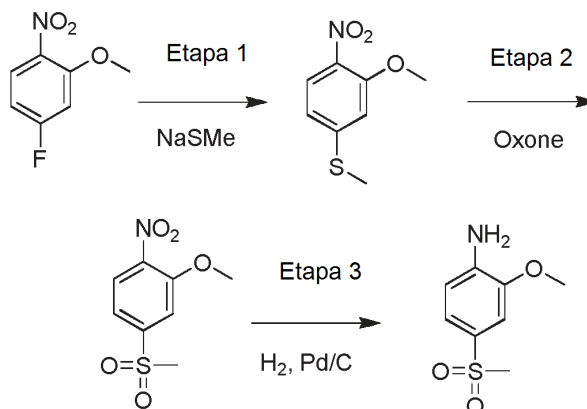
15

Tabla 2

1	2,5-dicloro-4-etoxipirimidina	
2	2,5-dicloro-4-propoxipirimidina	
3	2,5-dicloro-4-isopropoxipirimidina	
6	5-bromo-2-cloro-4-metoxipirimidina	



Preparación 3: 2-Metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina



5 Etapa 1: 2-Metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina

Una mezcla de 4-fluoro-2-metoxi-1-nitrobenceno (1,38 g, 8,06 mmol) y metil mercapturo sódico (0,622 g, 8,87 mmol) en DMF (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar (3-metoxi-4-nitrofenil)(metil)sulfano (0,95 g, 59 %).

10 Etapa 2: 2-Metoxi-4-(metilsulfonyl)-1-nitrobenceno

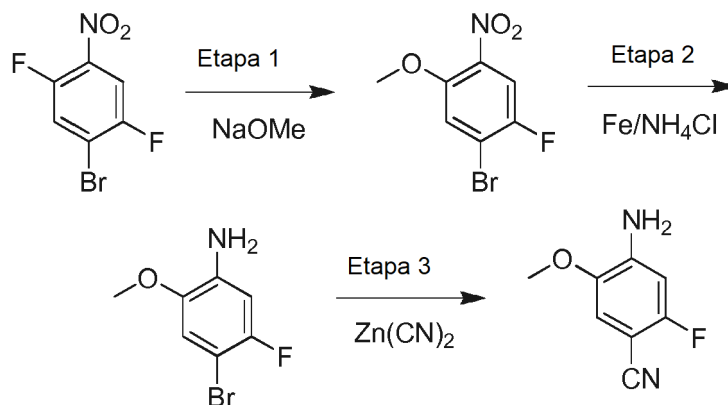
A una suspensión de (3-metoxi-4-nitrofenil)(metil)sulfano (0,58 g, 2,9 mmol) en acetona (10 ml) se le añadieron agua (10 ml), metanol (1,0 ml). La mezcla se enfrió en un baño de hielo durante 10 minutos antes de añadir Oxone (2,90 g, 4,72 mmol) en cuatro porciones durante 4 minutos. La reacción se agitó a 0 °C durante 15 minutos y después se dejó calentar hasta una temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas antes de diluirse con EtOAc (50 ml). La suspensión se filtró, se concentró a 1/3 de su volumen y se diluyó con agua (40 ml). Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar 2-metoxi-4-(metilsulfonyl)-1-nitrobenceno (0,67 g, 83 %).

20 Etapa 3: 2-Metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina

25 Una suspensión de 2-metoxi-4-(metilsulfonyl)-1-nitrobenceno (0,175 g, 0,76 mmol) y paladio sobre carbono (10 % en peso, 0,10 g) en etanol (10 ml) se agitó en hidrógeno a una presión atmosférica durante 18 horas. La reacción se filtró a través de celite y se concentró para dar 2-metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina (0,15 g, 92 %).

30 De forma análoga se prepararon: 2-cloro-4-(metilsulfonyl)anilina; 5-fluoro-2-metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina; 2-isopropoxi-4-(metilsulfonyl)anilina; 2-(2-fluoroetoxi)-4-(metilsulfonyl)anilina; 5-cloro-2-metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina; y 2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonyl)anilina.

Preparación 4: 4-Amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo



Etapa 1: 1-Bromo-2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzeno

5 A una solución de 1-bromo-2,5-difluoro-4-nitrobenzeno (2,56 g, 0,011 mmol) en metanol (20 ml) se le añadió una solución al 25 % de metóxido sódico en metanol (2,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Después, la reacción se concentró, se volvió a disolver en EtOAc y se lavó con agua. El lavado acuoso se extrajo de nuevo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar 1-bromo-2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzeno (2,65 g, 99 %).

10

Etapa 2: 4-Bromo-5-fluoro-2-metoxianilina

15 A una solución de 1-bromo-2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzeno (0,998 g, 3,99 mmol) en isopropanol (20 ml) se le añadieron hierro (0,7 g, 12 mmol), cloruro de amonio (0,64 g, 12 mmol) y agua (2 ml). La reacción se agitó a 75 °C durante 2 horas, después se filtró y se concentró. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar 4-bromo-5-fluoro-2-metoxianilina (0,82 g, 93 %).

15

Etapa 3: 4-Amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo

20 A un tubo de presión se le añadieron 4-bromo-5-fluoro-2-metoxianilina (0,24 g, 1,1 mmol), cianuro de cinc (0,10 g, 0,87 mmol), Pd₂(dba)₃ (100 mg, 0,11 mmol), DavePhos (86 mg, 0,22 mmol) y DMF (3 ml). La reacción se cerró herméticamente y se agitó a 100 °C durante 6 horas. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo (0,18 g, 77 %).

20

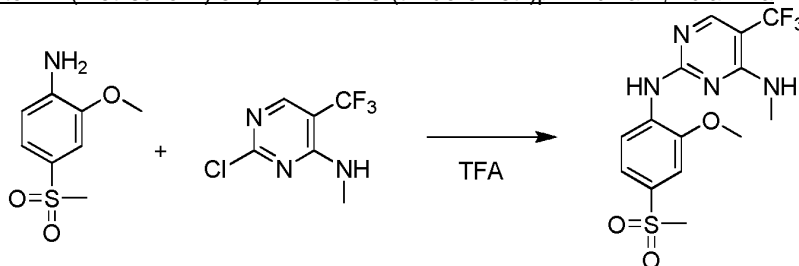
25

De forma análoga se prepararon: 4-amino-5-cloro-2-metilbenzonitrilo; 4-amino-5-metoxi-2-metilbenzonitrilo; y 4-amino-3-metoxibenzonitrilo.

30

Los Ejemplos 9, 11, 12, 14, 21, 22, 24-26, 29-33 y 37 se enumeran como "ejemplos de referencia".

Ejemplo 1: N2-(2-Metoxi-4-(metilsulfonyl)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina



35

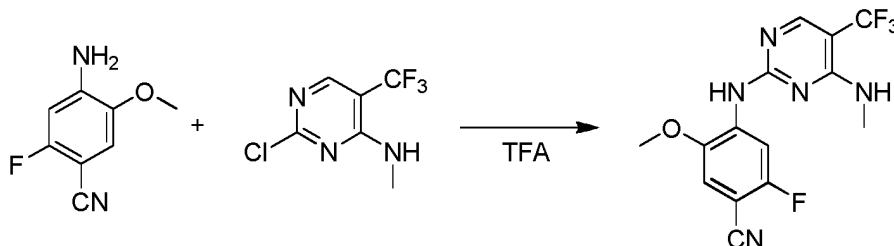
35 A una mezcla de 2-metoxi-4-(metilsulfonyl)anilina (0,095 g, 0,47 mmol) y 2-cloro-N-metil-5-(trifluorometil)pirimidin-4-amina (0,10 g, 0,47 mmol) en 1-butanol (1,5 ml) se le añadió TFA (0,036 ml, 0,047 mmol). La reacción se agitó en un tubo cerrado herméticamente a 100 °C durante 1,5 h. La reacción se concentró y el producto se aisló por HPLC de fase inversa para dar N2-(2-metoxi-4-(metilsulfonyl)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina (0,18 g, 20 %). RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 8,58 (d, J = 12,9, 1H), 8,24 (d, J = 5,0, 2H), 7,53 (d, J = 10,1, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,38 - 7,29 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,94 (d, J = 4,3, 3H); LRRK2 Ki = 0,002.

40

Ejemplo 2: 5-Cloro-N2-(2-metoxi-4-(metilsulfonyl)fenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina

Preparado de forma similar, usando 2-cloro-5-cloro-N-metilpirimidin-4-amina en lugar de 2-cloro-N-metil-5-(trifluorometil)pirimidin-4-amina, fue 5-cloro-N2-(2-metoxi-4-(metilsulfonyl)fenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina; RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 8,64 (d, J = 8,6, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,51 (d, J = 8,6, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,42 (d, J = 4,3, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,18 (s, 3H), 2,93 (d, J = 4,5, 3H); LRRK2 Ki = 0,002.

Los compuestos adicionales preparados usando los procedimientos anteriores se muestran en la Tabla 3 a continuación, junto con los valores de afinidad de LRRK2 Ki (micromolar) para compuestos seleccionados.

Ejemplo 3: 2-Fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo

A una mezcla de 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo (66 mg, 0,40 mmol) y 2-cloro-N-metil-5-(trifluorometil)pirimidin-4-amina (0,10 g, 0,47 mmol) en 1-butanol (2 ml) se le añadió TFA (0,05 ml, 0,07 mmol). La reacción se agitó en un tubo cerrado herméticamente a 75 °C durante 2 h. La reacción se concentró y el producto se aisló por HPLC de fase inversa para dar 2-fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo. RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 8,57 (d, J = 13,4, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,29 (d, J = 6,1, 1H), 7,56 - 7,42 (m, 3H), 3,93 (s, 3H), 2,95 (s, 3H); LRRK2 Ki = 0,022.

Ejemplo 4: 3-Metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo

Preparado de forma similar, usando 4-amino-3-metoxibenzonitrilo en lugar de 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo, fue: 3-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo: RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 8,53 (d, J = 8,7, 1H), 8,23 (d, J = 8,4, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,45 (d, J = 8,0, 1H), 7,35 (dd, J = 12,3, 7,3, 1H), 3,94 (s, 3H), 2,93 (d, J = 4,4, 3H); LRRK2 Ki = 0,008.

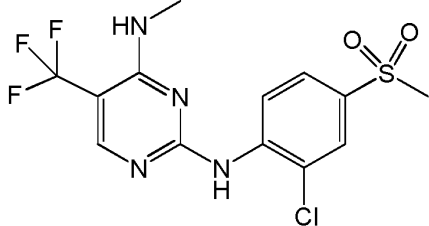
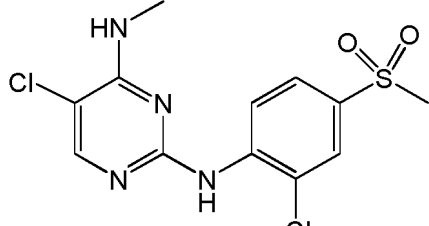
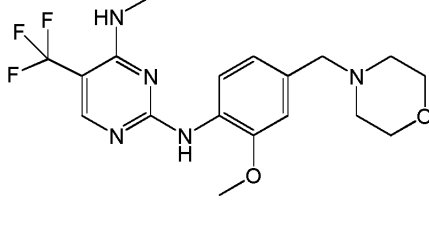
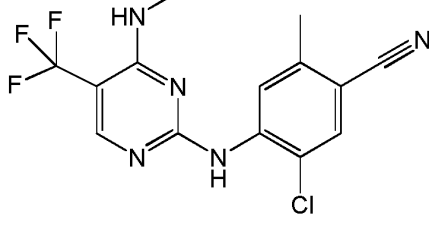
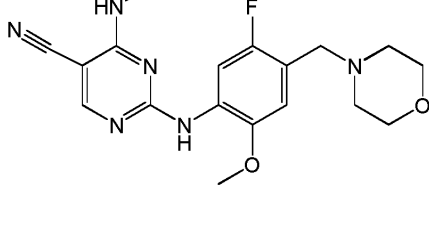
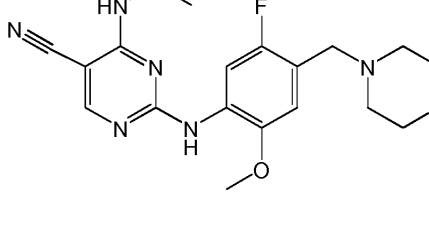
Ejemplo 5: 4-(5-Cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-3-metoxibenzonitrilo

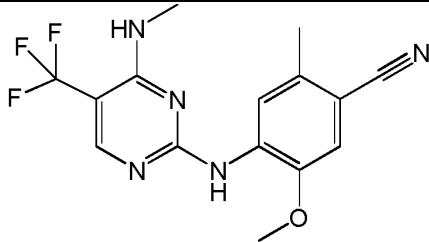
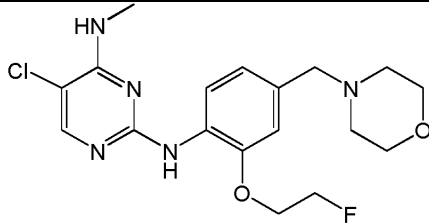
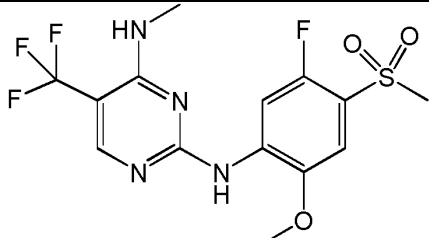
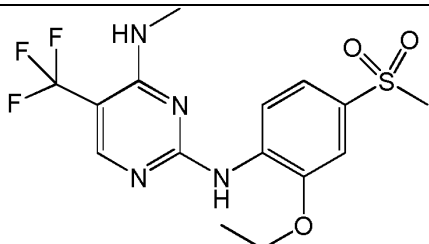
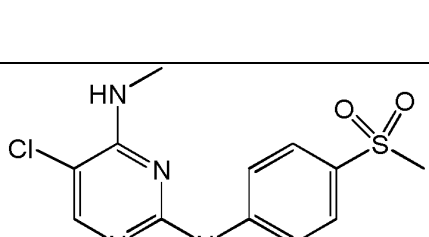
Preparado de forma similar, usando 4-amino-3-metoxibenzonitrilo en lugar de 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzonitrilo y 5-cloro-N4-metilpirimidina-2,4-diamina en lugar de 2-cloro-N-metil-5-(trifluorometil)pirimidin-4-amina, fue 4-(5-cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-3-metoxibenzonitrilo: RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ 8,59 (d, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,42 (m, 3H), 3,94 (s, 3H), 2,92 (d, 3H); LRRK2 Ki = 0,008.

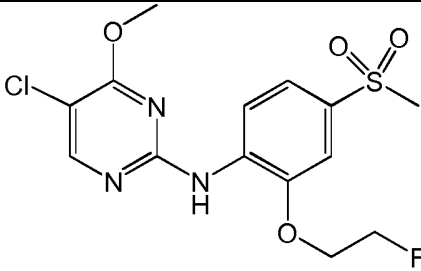
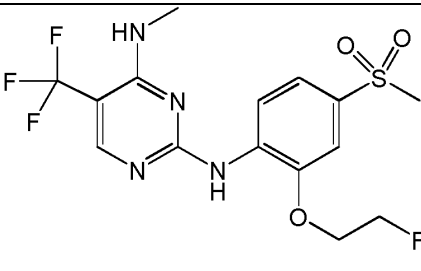
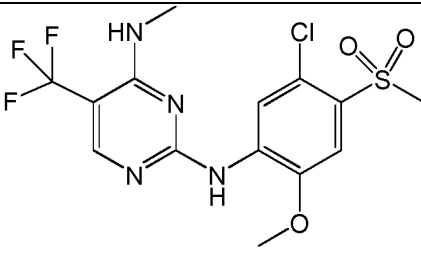
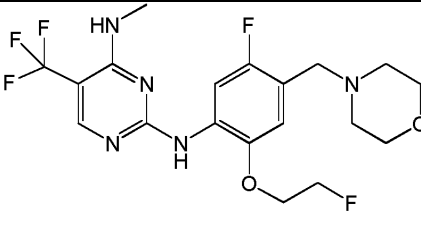
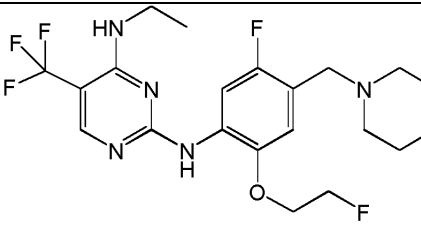
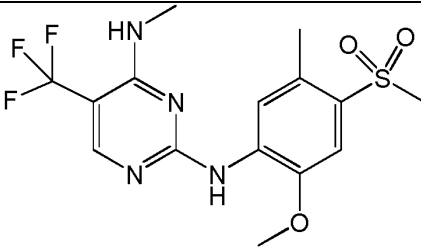
Los compuestos adicionales preparados usando los procedimientos anteriores se muestran en la Tabla 3 a continuación, junto con los valores de afinidad de LRRK2 Ki (micromolar) para compuestos seleccionados.

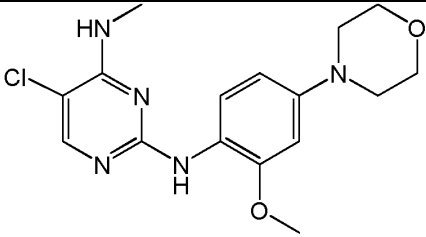
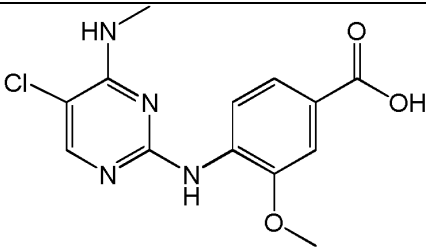
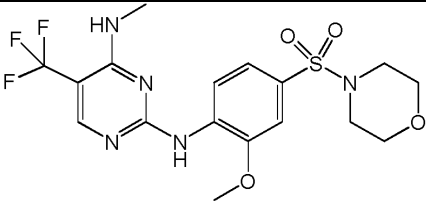
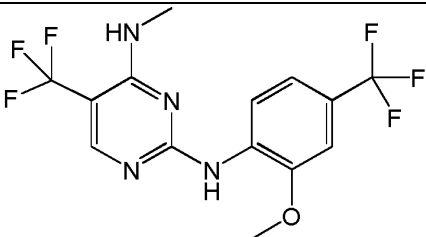
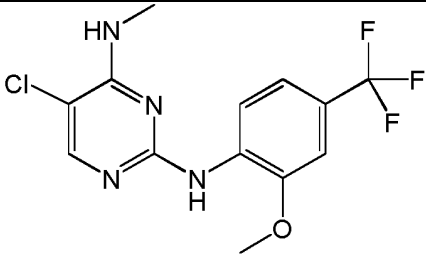
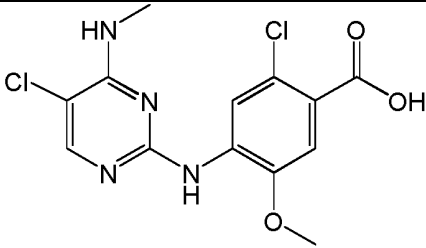
Tabla 3

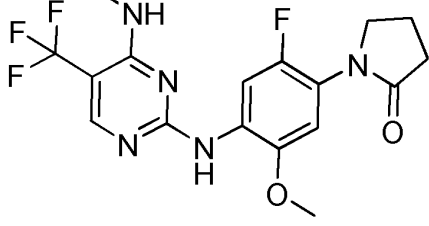
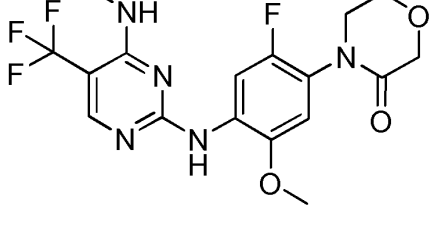
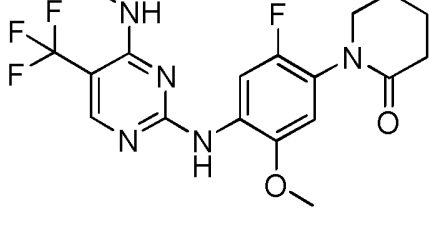
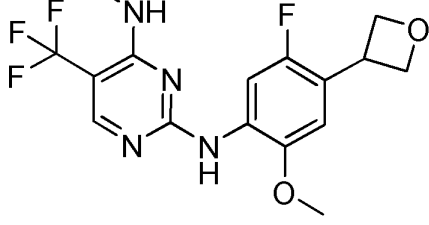
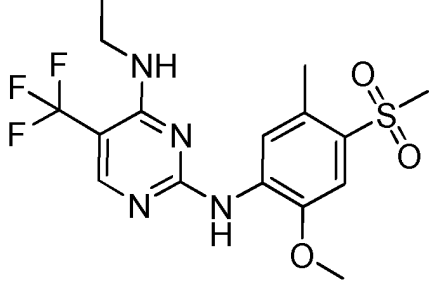
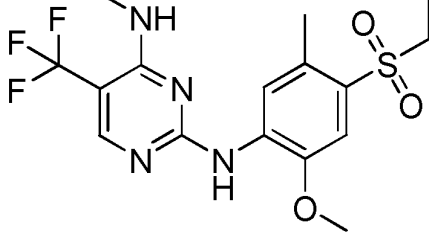
	Estructura	Nombre	Ki
6		(2-Cloro-4-metanosulfonyl-fenil)-(5-cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-amina	0,061

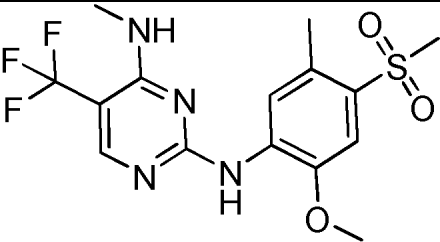
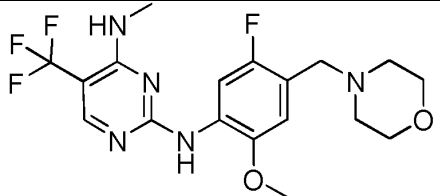
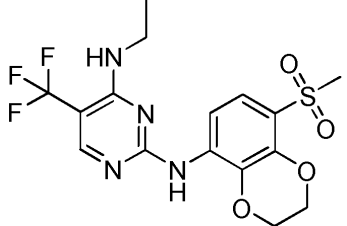
7		N2-(2-Chloro-4-metanosulfonyl-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,008
8		5-Cloro-N2-(2-cloro-4-metanosulfonyl-fenil)-N4-metil-pirimidina-2,4-diamina	0,008
9		N2-(2-Metoxi-4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,003
10		5-Cloro-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo	0,046
11		2-(5-Fluoro-2-metoxi-4-morfolin-4-ilmetil-fenilamino)-4-metilamino-pirimidina-5-carbonitrilo	0,027
12		4-Etilamino-2-(5-fluoro-2-metoxi-4-morfolin-4-ilmetilfenilamino)-pirimidina-5-carbonitrilo	0,014

13		5-Metoxi-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo	0,012
14		5-Cloro-N2-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-morfolin-4-ilmetil-fenil]-N4-metilpirimidina-2,4-diamina	0,009
15		N2-(5-Fluoro-4-metanosulfonyl-2-metoxifenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,003
16		N2-(2-Isopropoxi-4-metanosulfonyl-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,017
17		5-Cloro-N2-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-metanosulfonylfenil]-N4-metilpirimidina-2,4-diamina	0,012

18		(5-Cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-[2-(2-fluoro- etoxi)-4-metanosulfonilfenil]-amina	0,012
19		N2-[2-(2-Fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]- N4-metil-5-trifluorometilpirimidina-2,4-diamina	0,003
20		N2-(5-Cloro-4-metanosulfonil-2-metoxifenil)-N4- metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,001
21		N2-[5-Fluoro-2-(2-fluoroetoxi)-4-morfolin-4- ilmetil-fenil]-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina- 2,4-diamina	0,004
22		N4-Etil-N2-[5-fluoro-2-(2-fluoro-etoxi)-4- morfolin-4-ilmetil-fenil]-5-trifluorometil- pirimidina-2,4-diamina	0,002
23		N2-(4-Metanosulfonil-2-metoxi-5-metil-fenil)-N4- metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina	0,0003

24		5-cloro-N2-(2-metoxi-4-morfolinofenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina	0,009
25		ácido 4-(5-cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico	0,007
26		N2-(2-metoxi-4-(morfolinosulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,047
27		N2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,023
28		5-cloro-N2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)fenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina	0,035
29		ácido 2-cloro-4-(5-cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-5-metoxibenzoico	0,036

30		1-(2-fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)fenil)pirrolidin-2-ona	0,003
31		4-(2-fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)fenil)morfolin-3-ona	0,003
32		1-(2-fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)fenil)piperidin-2-ona	0,0055
33		N2-(5-fluoro-2-metoxi-4-(oxetan-3-il)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,003
34		N4-etil-N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,003
35		N2-(4-(etilsulfonil)-2-metoxi-5-metilfenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,003

36		N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,003
37		N2-(5-fluoro-2-metoxi-4-(morfolinometil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,056
38		N4-etil-N2-(8-(metilsulfonil)-2,3-dihidrobenczo[b][1,4]dioxin-5-il)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina	0,003

Ejemplo 30 Ensayo LabChip de LRRK2 in vitro

Este ensayo se usó para determinar la potencia de un compuesto para inhibir la actividad de LRRK2, determinando, K_{iapp} , CC_{50} o los valores de inhibición porcentual. EN una placa de polipropileno, se incubaron juntos LRRK2, sustrato péptido marcado fluorescentemente, ATP y el compuesto de prueba. Usando un LabChip 3000 (Caliper Life Sciences), después de la reacción el sustrato se separó por electroforesis capilar en dos poblaciones: fosforilado o sin fosforilar. Las cantidades relativas de cada uno se cuantificaron mediante la intensidad de fluorescencia. Se determinó el k_i de LRRK2 K_i de acuerdo con la ecuación:

$$Y=V_0*(1 - ((x+K_i*(1+S/K_m)+Et)/(2*Et)-(((x+K_i*(1+S/K_m)+Et)^2-(4*Et*x))^{0,5})/(2 *Et))).$$

Los valores K_i en la Tabla 4 y en otras partes en el presente documento se muestran en μM .

Las condiciones de ensayo y los materiales usados fueron los siguientes:

Condiciones de ensayo finales:

LRRK2 G2019S en $MgCl_2$ 5 mM: 5,2 nM (Invitrogen lot n.º 567054A)

LRRK2 G2019S en $MnCl_2$ 1 mM: 11 nM (Invitrogen lot n.º 567054A)

LRRK2 de tipo salvaje en $MgCl_2$ 5 mM: 15 nM (Invitrogen lot n.º 500607F)

LRRK2 I2020T en $MgCl_2$ 5 mM: 25 nM (Invitrogen lot n.º 43594)

Sustrato:	1 μM
ATP:	130 μM
Tiempo de reacción quinasa:	2 horas
Temperatura:	ambiente
Volumen total:	20 μl

ATP^{app} Kms:

G2019S en $MgCl_2$ 5 mM:	130 μM
--------------------------	-------------

G2019S en MnCl ₂ 1 mM:	1 µM
Tipo salvaje en MgCl ₂ 5 mM:	80 µM
I2020T en MgCl ₂ 5 mM:	14 µM

Materiales:

5 Soporte sólido: Placas de color negro de 384 pocillos de polipropileno y 50 µl de volumen (MatriCal cat n.º MP101-1-PP)

Quinasa: LRRK2 G2019S (Invitrogen cat n.º PV4882).
LRRK2 Tipo salvaje (Invitrogen cat n.º PV4874).

Sustrato: **5FAM-GAGRLGRDKYKTLRQIRQ-CONH₂**

Placa de no unión: placas (Greiner cat n.º 781280). **Polipropileno de fondo en V transparente de 384 pocillos**

ATP: **ATP 10 mM (Señal celular cat n.º 9804).**

Triton X-100: **Triton X-100.**

Brij-35: **Brij-35 (Pierce cat n.º 20150).**

Reactivo de recubrimiento n.º 3: **Reactivo de recubrimiento n.º 3 (Caliper).**

DMSO: **DMSO (Sigma cat n.º 34869-100ML).**

Tampón de reacción completo: **H₂O/Tris 25 mM, pH 8,0/MgCl₂ 5 mM/DTT 2 mM/Triton X-100 al 0,01 %.**

Solución de parada: **H₂O/HEPES 100 mM, pH 7,2/Brij-35 al 0,015 %/Reactivo de recubrimiento n.º 3 al 0,2 %/EDTA 20 mM.**

Tampón de separación: H₂O/HEPES 100 mM, pH 7,2/Brij-35 al 0,015 %/Reactivo de recubrimiento n.º 3 al 0,1 %/Reactivo de recubrimiento n.º 8 1:200/EDTA al 10 mM/DMSO al 5 %.

10

Preparación de la placa del compuesto:

Para diluciones en serie, se añadieron 34,6 µl de DMSO a las columnas 3-24. Para los controles de ensayo, se añadieron 37,5 µl de DMSO a las columnas 1 y 2 de las filas A y P. a, d y 50 µl de G-028831 25 µM (Staurosporina) a las columnas 1 y 2, fila B. Para las muestras: para empezar a 100 µM, se añadieron 37,5 µl de DMSO a las columnas 1 y 2, después 12,5 µl del compuesto 10 mM; para empezar a 10 µM, se añadieron 78 µl de DMSO a las columnas 1 y 2, después 2 µl del compuesto 10 mM; y para empezar a 1 µM, se añadió compuesto 25 µM (2 µl del comp. 10 mM + 798 µl de DMSO) se añadió a la columnas vacías 1 y 2. Se usó un instrumento de precisión para realizar diluciones en serie de 1:3.16 ("PLK_BM_serial_halflog").

20

Preparación de ATP:

El ATP se diluyó hasta 282,1 µM en tampón de quinasa completa (la concentración final fue de 130 µM).

25

Preparación total y en blanco:

En el tampón de reacción completo, se diluyó el sustrato hasta 4 µM. Se combinaron volúmenes iguales de tampón de reacción completa y sustrato 4 µM para obtener el blanco. se combinaron volúmenes iguales de tampón de reacción completo y sustrato 4 µM y se añadió a la solución combinada concentración 2X final de LRRK2.

30

Procedimiento de ensayo:

A una placa de 50 µl de polipropileno, se le añadieron 5 µl/pocillo de tampón/sustrato manualmente a pocillos en blanco. Se usó un Biomek FX para empezar la reacción quinasa ("PLK SAR 23 ATP"). Se añadieron los siguientes a los pocillos apropiados:

35

2 µl del compuesto + 23 µl de ATP;

5 µl/compuesto del pocillo/ATP en placa de ensayo;

40

5 µl/quinasa del pocillo/sustrato en placa de ensayo;

La placa se incubó durante 2 horas en la oscuridad. Se usó Biomek FX se usó para detener la reacción quinasa ("PLK Stop"), y se añadieron 10 µl/pocillo de la solución de parada a la placa de ensayo. Los resultados se leyeron en el LabChip 3000.

45

Protocolo Lab Chip 3000:

El LabChip 3000 se ejecutó usando el trabajo "LRRK2 C150" con las siguientes configuraciones de trabajo:

Presión:	-9,65 KPa (-1,4 psi)
Tensión aguas abajo:	-500 V
Tensión aguas arriba:	-2350 V
Tiempo de aspiración de tampón después de 75 segundos la muestra:	
Tiempo de aspiración de tampón después de 75 segundos la coloración:	
Tiempo de retardo final:	200 segundos

5

Ejemplo 31 Ensayo de unión Lanthascreen de LRRK2 in vitro

Este ensayo se usó para determinar la potencia de un compuesto para inhibir la actividad de LRRK2, determinando, K_{iapp} , CC_{50} o los valores de inhibición porcentual. En 384 pocillos proxiplates de fondo de color negro en F, se incubaron juntos placas de pocillos superficiales de LRRK2, anticuerpos Eu-anti-GST, trazador quinasa 236 Alexa Fluor® y compuesto de prueba.

La unión del "trazador" Alexa Fluor® a una quinasa se detectó mediante la adición de un anticuerpo anti-GST marcado con Eu. La unión del trazador y el anticuerpo a una quinasa da como resultado un alto grado de FRET, mientras que el desplazamiento del trazador con un inhibidor de quinasa da como resultado una pérdida de FRET.

Las condiciones de ensayo y los materiales usados fueron los siguientes:

Condiciones de ensayo finales:

20

GST-LRRK2 G2019S	10 nM
Eu-anti-GST-anticuerpo	2 nM
Trazador quinasa 236	8,5 nM
Tiempo de reacción quinasa:	1 hora
Temperatura:	ambiente
Volumen total:	15 μ l
DMSO	1 %

Materiales:

384 pocillos proxiplates de fondo de color negro en F pocillos superficiales Perkin Elmer cat n.º 6008260

25

Quinasa: LRRK2 G2019S Invitrogen cat n.º PV4882(LOT 567054A).

anticuerpo marcado con Eu anti-GST Invitrogen cat n.º PV5594

30

trazador quinasa 236 Alexa Fluor® Invitrogen cat n.º PV5592

TRIS-HCl Sigma cat n.º T3253

35

EGTA Sigma cat n.º E3889

Brij-35: Sigma cat n.º B4184 (30 % p/v)

DMSO: Sigma cat n.º D8418

40

MgCl₂ Sigma cat n.º M9272

Tampón de reacción: H₂O/Tris 50 mM, pH 7,4/MgCl₂ 10 mM/EGTA 1 mM/Brij 35 al 0,01 %.

Preparación de la placa del compuesto:

45

Los compuestos de prueba se diluyeron en serie (stock 10 mM) 1:3.16 (20 μ l + 43,2 μ l) en DMSO al 100 %. curva 12 pt. Diluir cada concentración 1:33.3 (3 μ l +97 μ l) en un tampón de reacción. Sellar 5 μ l a la placa de ensayo.

Concentración de prueba final máxima 100 uM.

Preparación total y en blanco:

- 5 En un tampón de reacción, se añadieron 5 ul de DMSO (3 %) a los pocillos totales y en blanco y se añadieron 5 ul de anticuerpo anti-GST marcado con Eu (6 nM) a pocillos en blanco.

Procedimiento de ensayo:

- 10 Añadir 5 ul de LRRK2 (30 nM)/anticuerpo anti-GST marcado con Eu (6 nM), mezclar al compuesto y pocillos totales. Añadir 5 ul de trazador quinasa (25,5 nM) a todos los pocillos. Incubar placas a temperatura ambiente durante 1 hora en un agitador de placa (agitación suave). Leer el protocolo HTRF en el lector Perkin Elmer EnVision.

Manejo de datos:

- 15 Calcular relación: $(665/620)*10000$. Restar los valores medios de fondo de todos los puntos de datos Calcular el % de control para cada valor de prueba. % gráfico de control frente a concentración del compuesto Calcular valor Ki (ajuste de curva xfit-Ecuación de Morrison).

- 20 Resultados expresados como un Ki en μM . La ecuación para Ki: $Y=V0*(1-((x+Ki*(1+S/Km)+Et)/(2*Et)-(((x+Ki*(1+S/Km)+Et)^2-(4*Et*x))^{0,5})/(2*Et)))$

En donde Et = 4 nM

- 25 kd (Trazador) = 8,5 nM

Concentración de trazador (S) = 8,5 nM.

Ejemplo 32 Modelo animal de la enfermedad de Parkinson

- 30 La enfermedad de Parkinson puede replicarse en ratones y en primates mediante la administración de tetrahidropiridina de 1-metil-4-fenilo (MPTP), una neurotoxina dopaminérgica nigroestriatal selectiva que produce una pérdida de marcadores terminales nerviosos de dopamina estriada (DA). Los compuestos de la invención pueden evaluarse para la eficacia en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson usando neurodegeneración inducida por MPTP, siguiendo generalmente el protocolo descrito por Saporito et al., J. Pharmacology (1999) Vol. 288, pág. 421-427.

- 40 Brevemente, la MPTP se disuelve en PBS a concentraciones de 2-4 mg/ml, y los ratones (machos C57 pesando 20-25 g) reciben una inyección subcutánea de 20 a 40 mg/kg. Los compuestos de la invención se solubilizan con hidroxiestearato de polietilenglicol y se disuelven en PBS. A los ratones se les administra 10 ml/kg de solución de compuesto por inyección subcutánea 4 a 6 h antes de la administración de MPTP, y después, diariamente durante 7 días. En el día de la última inyección, los ratones se sacrifican y el cerebro medio se bloquea y se fija en paraformaldehído. Los estriatos se diseccionan, se pesan y se almacenan a -70 °C.

- 45 Los estriados recogidos de esta manera, se evaluaron para el contenido de dopamina y sus metabolitos de ácido dihidroxifenilacético y ácido homovanílico, por HPLC con detección electroquímica como se describe por Sonsalla et al., J.Pharmacol. Exp. Ther. (1987) Vol. 242, pág. 850-857. Los estriados también pueden evaluarse usando el ensayo de tirosina hidroxilasa de Okunu et al., Anal Biochem (1987) Vol. 129, pág. 405-411 midiendo el desprendimiento de $^{14}\text{CO}_2$ asociado con la conversión mediada con tirosina hidrolasa de tirosina marcada a L-dopa.
- 50 Los estriados pueden evaluarse adicionalmente usando el ensayo de Monoamina oxidasa-B como se describe por White et al., Life Sci. (1984), Vol. 35, pág. 827-833, y controlando la captación de dopamina como se describe por Saporito et al.,(1992) Vol. 260, pág. 1400-1409.

Listado de secuencias

- 55 <110> F. Hoffmann-La Roche AG
- <120> INHIBIDORES DE AMINOPYRIMIDINA FENIL LSULFONA DE LRRK2
- 60 <130> 30987
- <141> 12797826,0
- <141> 2014-04-14
- 65 <160> 1

ES 2 638 595 T3

<210> 1 <211>21 <212> PRT <213> Humano

<400> 1

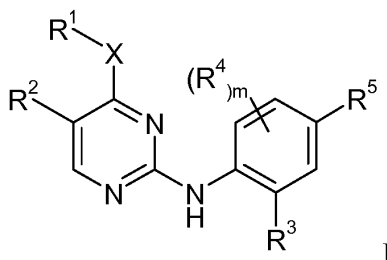
Phe Ala Met Gly Ala Gly Arg Leu Gly Arg Asp Lys Tyr Lys Thr
1 5 10 15

Leu Arg Gln Ile Arg Gln
20

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



5 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,
en donde:

m es de 0 a 3;

X es: -NR^a-; -O-; o -S(O)_r- en donde r es de 0 a 2 y R^a es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

10 R¹ es: alquilo C₁₋₆;

R² es: halo; alcoxi C₁₋₆; ciano; alquinilo C₂₋₆; alquenilo C₂₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; halo-alcoxi C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₆ en donde la porción de cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituida con alquilo C₁₋₆; cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆ en donde la porción de cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituida con alquilo C₁₋₆; tetrahidrofuranilo; tetrahidrofuranilo-alquilo C₁₋₆; acetilo; oxetanilo; u oxetan-alquilo C₁₋₆;

15 R³ y R⁴ cada uno independientemente son: halo; alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₆; halo-alquilo C₁₋₆; o halo-alcoxi C₁₋₆;

o R³ y R⁴ junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un anillo de cinco o seis miembros que incluye opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S, estando el anillo opcionalmente sustituido una o más veces con R⁶;

20 R⁵ es: alquil-sulfonilo C₁₋₆; o ciano; y

R⁶ es: alquilo C₁₋₆; halo; halo-alquilo C₁₋₆; u oxo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde m es 0 o 1.

25 3. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde X es -NH- o -O-.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R¹ es metilo.

30 5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde R² es: halo, halo-alquilo C₁₋₆ o ciano.

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde R³ es flúor, cloro o metoxi.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde R⁴ es flúor, cloro, metilo o metoxi.

35 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde R⁵ es alquil-sulfonilo C₁₋₆.

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde R⁵ es ciano.

40 10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde R⁵ es: metanosulfonilo.

11. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona entre el grupo que consiste en N2-(2-Metoxi-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-(2-metoxi-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metilpirimidina-2,4-diamina, 2-Fluoro-5-metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo, 3-Metoxi-4-(4-(metilamino)-5-(trifluorometil)pirimidin-2-ilamino)benzonitrilo, 4-(5-Cloro-4-(metilamino)pirimidin-2-ilamino)-3-metoxibenzonitrilo, (2-Cloro-4-metanosulfonil-fenil)-(5-cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-amina, N2-(2-Cloro-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-(2-cloro-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo, 5-Metoxi-2-metil-4-(4-metilamino-5-trifluorometil-pirimidin-2-ilamino)-benzonitrilo, N2-(5-Fluoro-4-metanosulfonil-2-metoxi-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N2-(2-Isopropoxi-4-metanosulfonil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, 5-Cloro-N2-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-N4-metil-pirimidina-2,4-diamina, (5-Cloro-4-metoxi-pirimidin-2-il)-[2-(2-fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-amina, N2-[2-(2-Fluoro-etoxi)-4-metanosulfonil-fenil]-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N2-(4-Metanosulfonil-2-metoxi-5-metil-fenil)-N4-metil-5-trifluorometil-pirimidina-2,4-diamina, N4-etil-N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, N2-(4-(etilsulfonil)-2-metoxi-5-metilfenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina, N2-(2-metoxi-5-metil-4-(metilsulfonil)fenil)-N4-metil-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina y N4-etil-N2-(8-(metilsulfonil)-2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-5-il)-5-(trifluorometil)pirimidina-2,4-diamina; o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

12. Una composición que comprende:

(a) un vehículo farmacéuticamente aceptable; y

5 (b) un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. Un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para un uso en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

10 14. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, para uso en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.