



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 667**

51 Int. Cl.:
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01989898 .0**
96 Fecha de presentación : **05.12.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1343781**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2003**

54 Título: **Inhibidores de quinasas terminales c-Jun(JNK) y otras proteínas quinasas.**

30 Prioridad: **05.12.2000 US 251409 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2008

73 Titular/es:
VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
130 Waverly Street
Cambridge, Massachusetts 02139-4242, US

72 Inventor/es: **Ledeboer, Mark;**
Salituro, Francesco y
Moon, Young-Choon

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 307 667 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de quinasas terminales c-Jun (JNK) y otras proteínas quinasas.

5 El presente invento se refiere a inhibidores de proteína quinasas, especialmente quinasas N-terminales c-Jun (JNKs; del inglés, c-Jun N-terminal kinases), que son miembros de la familia de proteína quinasas activadas por mitógenos (MAP; del inglés, mitogen-activated protein kinases). Hay diversos genes e isoformas diferentes que codifican JNKs. Los miembros de la familia de JNKs regulan la transducción de señales en respuesta al estrés ambiental y a citocinas proinflamatorias y han sido implicados en el desempeño de un papel en la mediación de diversos trastornos diferentes.
10 El invento también se refiere a métodos para producir esos inhibidores. El invento también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los inhibidores del invento, y métodos para utilizar esas composiciones en el tratamiento y la prevención de diversos trastornos.

Antecedentes del invento

15 Las células de mamífero responden a estímulos extracelulares activando cascadas de señalización que son mediadas por miembros de la familia de proteína quinasas activadas por mitógenos (MAP), que incluyen las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERKs; del inglés, extracellular signal regulated kinases), las MAP quinasas p38 y las quinasas N-terminales c-Jun (JNKs). Las MAP quinasas (MAPKs) son activadas por una diversidad de señales, que incluyen factores de crecimiento, citocinas, radiación UV y agentes inductores de estrés. Las MAPKs son serina/treonina quinasas, y su activación tiene lugar por fosforilación doble de treonina y tirosina en el segmento Thr-X-Tyr del bucle de activación. Las MAPKs fosforilan diversos sustratos, incluyendo factores de transcripción, los cuales regulan a su vez la expresión de grupos específicos de genes y, de este modo, median en una respuesta específica al estímulo.

25 Una familia de quinasas particularmente interesante es la formada por las proteína quinasas NH₂-terminales c-Jun, también conocidas como JNKs. Se han identificado tres genes distintos, Jnk1, Jnk2 y Jnk3, y existen al menos diez isoformas de corte y empalme diferentes de JNKs en células de mamífero [Gupta *et al.*, *EMBO J.* 15: 2760-70 (1996)]. Los miembros de la familia de JNKs son activados por citocinas proinflamatorias, tales como el factor α de necrosis tumoral (TNF- α ; del inglés, tumor necrosis factor- α) y la interleucina 1 β (IL-1 β), así como por el estrés ambiental, incluyendo la anisomicina, la irradiación UV, la hipoxia y el choque osmótico [Minden *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta* 1333: F85-F104 (1997)].
30

Los sustratos de JNKs situados aguas abajo incluyen los factores de transcripción c-Jun, ATF-2, Elk1 y p53 y una proteína con dominio de muerte celular (DENN) [Zhang *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 2586-91 (1998)]. Cada isoforma de JNK se une a estos sustratos con afinidades diferentes, lo que sugiere una regulación *in vivo* de las vías de señalización por la especificidad de las diferentes JNKs con respecto al sustrato (Gupta *et al.*, *supra*).
35

Las JNKs, junto con otras MAPKs, han sido implicadas en el desempeño de un papel en la mediación de la respuesta celular al cáncer, la agregación de plaquetas inducida por trombina, trastornos de inmunodeficiencia, enfermedades autoinmunes, muerte celular, alergias, osteoporosis y enfermedad cardíaca. Los objetivos terapéuticos relacionados con la activación de la vía de JNKs incluyen leucemia mieloide crónica (CML; del inglés, chronic myelogenous leukemia), artritis reumatoide, asma, osteoartritis, isquemia, cáncer y enfermedades neurodegenerativas.
40

En varios comunicados se ha detallado la importancia de la activación de JNKs asociada con la enfermedad hepática o con episodios de isquemia hepática [Nat. Genet. 21: 326-9 (1999); *FEBS Lett.* 420: 201-4 (1997); *J. Clin. Invest.* 102: 1942-50 (1998); *Hepatology* 28: 1022-30 (1998)]. Por lo tanto, los inhibidores de JNK pueden ser útiles para tratar diversos trastornos hepáticos.
45

También se ha comunicado un papel de JNK en la enfermedad cardiovascular, tal como el infarto de miocardio o la insuficiencia cardíaca congestiva, ya que se ha mostrado que JNK media en respuestas hipertróficas a diversas formas de estrés cardíaco [*Circ. Res.* 83: 167-78 (1998); *Circulation* 97: 1731-7 (1998); *J. Biol. Chem.* 272: 28.050-6 (1997); *Circ. Res.* 79: 162-73 (1996); *Circ. Res.* 78: 947-53 (1996); *J. Clin. Invest.* 97: 508-14 (1996)].
50

Se ha demostrado que la cascada de JNK también desempeña un papel en la activación de células T, incluyendo la activación del promotor de IL-2. De esta manera, los inhibidores de JNK pueden tener un valor terapéutico al alterar respuestas inmunes patológicas [*J. Immunol.* 162: 3176-87 (1999); *Eur. J. Immunol.* 28: 3867-77 (1998); *J. Exp. Med.* 186: 941-53 (1997); *Eur. J. Immunol.* 26: 989-94 (1996)].
55

También se ha establecido un papel para la activación de JNK en diversos cánceres, lo que sugiere el posible uso de inhibidores de JNK en el cáncer. Por ejemplo, la JNK constitutivamente activada se asocia con la tumorigénesis mediada por HTLV-1 [*Oncogene* 13: 135-42 (1996)]. La JNK puede desempeñar un papel en el sarcoma de Kaposi (KS; del inglés, Kaposi's sarcoma) porque se piensa que los efectos proliferativos de bFGF y OSM sobre células de KS son mediados por su activación de la vía de señalización de JNK [*J. Clin. Invest.* 99: 1798-804 (1997)]. Otros efectos proliferativos de otras citocinas implicadas en la proliferación de KS, tales como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF; del inglés, vascular endothelial growth factor), IL-6 y TNF- α , pueden ser también mediados por JNK. Además, la regulación del gen c-jun en células transformadas con BCR-ABL de p210 se corresponde con la actividad de JNK, lo que sugiere un papel de los inhibidores de JNK en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (CML) [*Blood* 92: 2450-60 (1998)].
60
65

JNK1 y JNK2 se expresan ampliamente en una diversidad de tejidos. Por contraste, JNK3 se expresa selectivamente en el cerebro y, en menor grado, en el corazón y el testículo [Gupta *et al.*, *supra*; Mohit *et al.*, *Neuron* 14: 67-78 (1995); Martin *et al.*, *Brain Res. Mol. Brain Res.* 35: 47-57 (1996)]. la JNK3 ha sido vinculada a la apoptosis neuronal inducida por ácido kaínico, lo que indica un papel de JNK en la patogénesis de la neurotoxicidad por glutamato. En el cerebro humano adulto, la expresión de JNK3 está localizada en una subpoblación de neuronas piramidales en las regiones CA1, CA4 y subículo del hipocampo y en las capas 3 y 5 del neocórtex (Mohit *et al.*, *supra*). Las neuronas de CA1 de pacientes con hipoxia aguda presentaban una intensa inmunorreactividad hacia JNK3 nuclear en comparación con la mínima y difusa tinción citoplásmica de las neuronas hipocámpicas procedentes de tejidos cerebrales de pacientes normales (Zhang *et al.*, *supra*). Por lo tanto, parece que JNK3 está implicada en el daño hipóxico e isquémico de neuronas de CA1 en el hipocampo.

Además, JNK3 se colocaliza inmunquímicamente con neuronas vulnerables en la enfermedad de Alzheimer (Mohit *et al.*, *supra*). La alteración del gen JNK3 causaba la resistencia de ratones al ácido kaínico, un agonista excitotóxico del receptor de glutamato, incluyendo los efectos de actividad convulsiva, actividad transcripcional de AP-1 y apoptosis de neuronas hipocámpicas, lo que indica que la vía de señalización de JNK3 es un componente crítico en la patogénesis de la neurotoxicidad por glutamato [Yang *et al.*, *Nature* 389: 865-70 (1997)].

Basándose en estos hallazgos, la señalización de JNK, especialmente la de JNK3, ha sido implicada en las áreas de enfermedades neurodegenerativas impulsadas a apoptosis, tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica (ALS; del inglés, *amyotrophic lateral sclerosis*), epilepsia y convulsiones, la enfermedad de Huntington, lesiones cerebrales traumáticas, así como los ictus isquémico y hemorrágico.

Reciente evidencia sugiere ahora que las isoformas JNK1 y JNK2 íntimamente relacionadas también desempeñan un papel en cuanto a que se lleve a cabo una apoptosis aguas abajo [Tournier *et al.*, *Science* 288: 870-874 (2000); Mielke *et al.*, *Neuroscience* 91: 471-483 (1999)]. Por lo tanto, estas isoformas son también objetivos potencialmente importantes en el tratamiento del ictus y de otras enfermedades relacionadas con la apoptosis. Por ejemplo, las tres isoformas de JNK (JNK1, 2 y 3) se expresan en los cerebros adultos de seres humanos y roedores. La JNK3 se localiza en el hipocampo, como se mencionó anteriormente, mientras que JNK1 y JNK2 se expresan en otros compartimentos del cerebro [Derijard *et al.*, *Cell* 76: 1025-37 (1994); Gupta *et al.*, *supra*; Kyriakis *et al.*, *Nature* 369: 156-160 (1994)]. En células que expresan JNK1 y JNK2, la alteración del gen *Jnk1* causó una mayor disminución de actividad c-Jun quinasa que la alteración del gen *Jnk2*. Sin embargo, había que dejar inoperantes ambos genes con objeto de proteger completamente de la apoptosis inducida por estrés (Tournier *et al.*, *supra*). A la vista de estos hallazgos, sería particularmente deseable hallar inhibidores que fueran activos contra ambos objetivos, JNK1 y JNK2.

Queda la gran necesidad médica no satisfecha de desarrollar inhibidores específicos de JNK que sean útiles en el tratamiento de los diversos estados asociados con la activación de JNK, especialmente al considerar las actualmente disponibles y relativamente inadecuadas opciones de tratamiento para la mayoría de estos estados.

Se ha realizado mucho trabajo para identificar y desarrollar fármacos que inhiban MAPKs, tales como inhibidores de p38; véanse, por ejemplo, los Documentos WO 00/31063, WO 98/52937, WO 98/27098 y WO 95/31451. Sin embargo, según nuestro conocimiento, ningún inhibidor de MAPK ha mostrado ser específicamente selectivo para una o más JNKs frente a otras MAPKs relacionadas. Además, no sabemos de ningún inhibidor que sea activo tanto frente a JNK1 como frente a JNK2 ni frente a las tres isoformas de JNK anteriormente mencionadas.

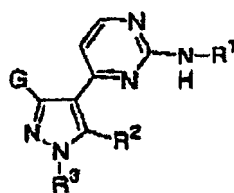
En consecuencia, aún existe la gran necesidad de desarrollar potentes inhibidores de JNKs, incluyendo inhibidores de JNK1, 2 y 3, que sean útiles en el tratamiento de diversos estados asociados con la activación de JNK.

Sumario del invento

Se ha hallado ahora que los compuestos de este invento y las composiciones farmacéuticas de los mismos son eficaces como inhibidores de quinasas N-terminales c-Jun (JNKs). Estos compuestos son inhibidores selectivos de JNKs que muestran una buena actividad frente a las tres isoformas de JNK (JNK1, JNK2 y JNK3) y una actividad relativamente baja frente a la quinasa p38. Por lo tanto, los compuestos son útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por JNKs, especialmente de enfermedades neurodegenerativas en que están implicadas las tres isoformas de JNK.

Descripción detallada del invento

Los compuestos presentes tienen la fórmula general II:



II

ES 2 307 667 T3

en la que:

R¹ es seleccionado entre fenilo, ciclohexilo, piridilo, naftilo y quinoleinilo opcionalmente sustituidos;

5 R es un grupo alifático o alifático sustituido C₁ a C₁₂;

R² es seleccionado entre hidrógeno y -R;

10 R³ es seleccionado entre R, hidroxialquilo, alcoxialquilo, alquiltioalquilo, aminoalquilo, alquiaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, arilo, aralquilo y ariloxialquilo; y

G es hidrógeno o alquilo C₁₋₃;

15 en que cada átomo de carbono sustituible de dicho fenilo, ciclohexilo, piridilo, naftilo o quinoleinilo opcionalmente sustituido, incluyendo el anillo fusionado cuando está presente, está opcional e independientemente sustituido con halógeno, R, OR, SR, OH, NO₂, CN, NH₂, NHR, N(R)₂, NHCOR, NHCONHR, NHCON(R)₂, NRCOR, NHCO₂R, CO₂R, CO₂H, COR, CONHR, CON(R)₂, S(O)₂R, SONH₂, S(O)R, SO₂NHR o NHS(O)₂R; y

20 en que cada átomo de nitrógeno sustituible de dicho piridilo o quinoleinilo opcionalmente sustituido está opcionalmente sustituido con R, COR, S(O)₂R o CO₂R;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 A menos que se indique otra cosa, se aplicarán las definiciones siguientes, como se usan aquí. El término “alifático”, como se usa aquí, significa hidrocarburos C₁-C₁₂ de cadena lineal, ramificada o cíclica, preferiblemente de uno a seis carbonos, que están completamente saturados o que contienen una o más unidades de insaturación pero que no son aromáticos. Por ejemplo, los grupos alifáticos adecuados incluyen grupos alquilo, alqueno y alquino lineales, ramificados o cíclicos, sustituidos o no sustituidos, e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo y (cicloalquino)alqueno. Los términos “alquilo” y “alcoxilo”, utilizados solos o como parte de un resto mayor, se refieren a cadenas tanto lineales como ramificadas que contienen de uno a doce átomos de carbono. Los términos “alqueno” y “alquino”, usados solos o como parte de un resto mayor, incluirán cadenas tanto lineales como ramificadas que contienen de dos a doce átomos de carbono. Los términos “haloalquilo”, “haloalqueno” y “haloalcoxilo” significan alquilo, alqueno o alcoxilo, según sea el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término “halógeno” significa F, Cl, Br o I. El término “heteroátomo” significa N, O o S e incluirá toda forma oxidada de nitrógeno y azufre y la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico.

40 El término “arilo”, usado solo o como parte de un resto mayor, como en “aralquilo”, se refiere a grupos anulares aromáticos que tienen de cinco a catorce miembros, tales como fenilo, bencilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo, y grupos aromáticos heterocíclicos o grupos heteroarílicos tales como 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxadiazolilo, 5-oxadiazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-pirimidilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 5-tetrazolilo, 2-triazolilo, 5-triazolilo, 2-tienilo y 3-tienilo.

45 Los grupos arilo también incluyen sistemas policíclicos de anillos aromáticos fusionados en que un anillo aromático carbocíclico o un anillo heteroarílico está fusionado con uno o más anillos diferentes. Los ejemplos incluyen tetrahidronaftilo, benzoimidazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, indolilo, quinoleinilo, benzodiazepinilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, benzoimidazolilo, isoquinoleinilo, isoindolilo, acridinilo, benzoisoxazolilo y similares. Dentro del alcance del término “arilo”, como se usa aquí, también se incluye un grupo en que uno o más anillos aromáticos carbocíclicos y/o anillos heteroarílicos están fusionados con un cicloalquilo o un heterociclilo no aromático, tal como, por ejemplo, indanilo o tetrahidrobenzopirano.

50 El término “anillo heterocíclico” o “heterociclilo” se refiere a un anillo no aromático que incluye uno o más heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo. El anillo puede tener cinco, seis, siete u ocho miembros y/o estar fusionado con otro anillo, tal como un anillo cicloalquílico o aromático. Los ejemplos incluyen 3-1H-benzoimidazol-2-ona, 3-1-alquil-benzoimidazol-2-ona, 2-tetrahidrofuranilo, 3-tetrahidrofuranilo, 2-tetrahidropirano, 3-tetrahidropirano, 4-tetrahidropirano, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolino, 3-morfolino, 4-morfolino, 2-tiomorfolino, 3-tiomorfolino, 4-tiomorfolino, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 4-tiazolidinilo, diazolonilo, diazolonilo N-sustituido, 1-ftalimidinilo, benzoxano, benzotriazol-1-ilo, benzopirrolidina, benzopiperidina, benzoxolano, benzotiolano y benzotiano.

65 Un compuesto de este invento puede contener un anillo que esté fusionado con un anillo de cinco a siete miembros, parcialmente saturado o totalmente insaturado, que contiene de cero a tres heteroátomos. Dicho anillo fusionado puede ser un anillo monocíclico aromático o no aromático, cuyos ejemplos incluyen los anillos arílicos y heterocíclicos anteriormente descritos.

ES 2 307 667 T3

Un grupo arilo (carbocíclico y heterocíclico) o un grupo aralquilo, tal como bencilo o fenilo, puede contener uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo incluyen un halógeno, -R, -OR, -OH, -SH, -SR, OH protegido (tal como aciloxilo), fenilo (Ph), Ph sustituido, -OPh, -OPh sustituido, -NO₂, -CN, -NH₂, -NHR, -N(R)₂, -NHCOR, -NHCONHR, -NHCON(R)₂, -NRCOR, -NHCO₂R, -CO₂R, -CO₂H, -COR, -CONHR, -CON(R)₂, -S(O)₂R, -SONH₂, -S(O)R, -SO₂NHR y NHS(O)₂R, en que R es un grupo alifático o un grupo alifático sustituido.

Un grupo alifático y un anillo heterocíclico no aromático pueden contener uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o de un anillo heterocíclico no aromático incluyen los anteriormente enumerados para el carbono insaturado, tal como en un anillo aromático, así como los siguientes: =O, =S, =NNHR, =NNR₂, =N-OR, =NNHCOR, =NNHCO₂R, =NNHSO₂R y =NR.

Un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico aromático o no aromático puede estar opcionalmente sustituido. Los sustituyentes adecuados en el nitrógeno incluyen R, COR, S(O)₂R y CO₂R, en que R es un grupo alifático o un grupo alifático sustituido.

Los compuestos obtenidos al realizar sustituciones isostéricas o bioisostéricas de restos ácido carboxílico o éster de los compuestos aquí descritos caen dentro del alcance de este invento. Los isómeros, que resultan del cambio de un átomo o un grupo de átomos para crear un nuevo compuesto con propiedades biológicas similares a las del ácido carboxílico u éster originario, son conocidos en la técnica. La sustitución bioisostérica puede ser de base físicoquímica o topológica. Un ejemplo de una sustitución isostérica para un ácido carboxílico es un CONHSO₂(alquilo) tal como CONHSO₂Me.

Resultará evidente a un experto en la técnica que ciertos compuestos de este invento pueden existir en formas tautómeras o formas hidratadas, cayendo todas las citadas formas de los compuestos dentro del alcance del invento. A menos que se afirme otra cosa, mediante las estructuras aquí representadas también se pretende incluir todas las formas estereoquímicas de la estructura; es decir, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico. Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantiómeras y diastereómeras de los presentes compuestos caen dentro del alcance del invento. A menos que se afirme otra cosa, mediante las estructuras aquí representadas también se pretende incluir los compuestos que sólo difieren en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las estructuras presentes salvo por la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o un tritio, o por la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en ¹³C o ¹⁴C, caen dentro del alcance de este invento. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

Los ejemplos del grupo R² incluyen, pero no se limitan a, hidrógeno, metilo, alcoximetilo (tal como metoximetilo, metoxietoximetilo y etoximetilo), benciloximetilo y heterociclilmetilo (tal como piperidin-1-ilmetilo, morfolin-4-ilmetilo y tetrahidrofuran-3-ilmetilo), cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos del grupo R³ incluyen, pero no se limitan a, fenilo y bencilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.

En la Tabla 1 siguiente se muestran ejemplos de compuestos de fórmula II.

TABLA 1

Nº	G	R ¹	R ²	R ³
II-1	CH ₃	fenilo	H	Ph
II-2	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	Ph
II-3	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	Ph
II-4	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	Ph
II-5	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	Ph
II-6	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	Ph
II-7	CH ₃	4-fluoro-fenilo	H	Ph
II-8	CH ₃	4-COCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-9	CH ₃	4-CONH ₂ -fenilo	H	Ph
II-10	CH ₃	4-SCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-11	CH ₃	3-OCH ₃ -fenilo	H	Ph

ES 2 307 667 T3

5	II-12	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	Ph
	II-13	CH ₃	4-CO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
	II-14	CH ₃	4-SO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
	II-15	CH ₃	4-CO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
10	II-16	CH ₃	4-N(CH ₃) ₂ -fenilo	H	Ph
	II-17	CH ₃	3-NO ₂ -fenilo	H	Ph
	II-18	CH ₃	3-NHCOCH ₃ -fenilo	H	Ph
15	II-19	CH ₃	3-NH ₂ -fenilo	H	Ph
	II-20	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo	H	Ph
	II-21	CH ₃	3-(CH ₂ CH ₂ CO ₂ H)-fenilo	H	Ph
20	II-22	CH ₃	3-(CH ₂ CO ₂ H)-fenilo	H	Ph
	II-23	CH ₃	3-CH ₂ OH-fenilo	H	4-CH ₃ -Ph
25	II-24	CH ₃	fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-25	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-26	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	4-Cl-Ph
30	II-27	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
	II-28	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	4-F-Ph
	II-29	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	4-OMe-fenilo
35	II-30	CH ₃	4-fluoro-fenilo	H	2,5-Cl ₂ -PhPh
	II-31	CH ₃	4-COCH ₃ -fenilo	H	2,4-F ₂ -Ph
	II-32	CH ₃	4-CONH ₂ -fenilo	H	4-NO ₂ -Ph
40	II-33	CH ₃	4-SCH ₃ -fenilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
	II-34	CH ₃	3-OCH ₃ -fenilo	H	3-Cl-Ph
45	II-35	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-36	CH ₃	4-CH ₃ -fenilo	H	3-OBn-Ph
	II-37	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
50	II-38	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-39	CH ₃	ciclohexilo	H	4-Cl-Ph
	II-40	CH ₃	ciclohexilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
55	II-41	CH ₃	ciclohexilo	H	4-F-Ph
	II-42	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-43	CH ₃	ciclohexilo	H	2,5-Cl ₂ -Ph
60	II-44	CH ₃	ciclohexilo	H	2,4-F ₂ -Ph
	II-45	CH ₃	ciclohexilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-46	CH ₃	ciclohexilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
65	II-47	CH ₃	ciclohexilo	H	3-Cl-Ph

ES 2 307 667 T3

5	II-48	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-49	CH ₃	ciclohexilo	H	3-OBn-Ph
	II-50	CH ₃	ciclohexilo	H	-CH ₂ Ph
	II-51	CH ₃	ciclohexilo	H	Ph
10	II-52	CH ₃	fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-53	H	4-metoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-54	H	3,4-dimetoxi-fenilo	H	4-Cl-Ph
15	II-55	H	3,5-dimetoxi-fenilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
	II-56	H	4-ciano-fenilo	H	4-F-Ph
	II-57	H	3-fluoro-fenilo	H	4-OMe-fenilo
20	II-58	H	4-fluoro-fenilo	H	2,5-Cl ₂ -PhPh
	II-59	H	4-COCH ₃ -fenilo	H	2,4-F ₂ -Ph
25	II-60	H	4-CONH ₂ -fenilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-61	H	4-SCH ₃ -fenilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
	II-62	H	3-OCH ₃ -fenilo	H	3-Cl-Ph
30	II-63	H	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-64	H	4-CH ₃ -fenilo	H	3-OBn-Ph
	II-65	H	ciclohexilo	H	bencilo
35	II-66	H	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-67	H	ciclohexilo	H	fenilo
40	II-68	H	ciclohexilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
	II-69	H	ciclohexilo	H	2,4-Cl ₂ -Ph
	II-70	H	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
45	II-71	H	ciclohexilo	H	2,5-Cl ₂ -Ph
	II-72	H	ciclohexilo	H	2,4-F ₂ -Ph
	II-73	H	ciclohexilo	H	4-NO ₂ -Ph
50	II-74	H	ciclohexilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
	II-75	H	ciclohexilo	H	3-Cl-Ph
	II-76	H	fenilo	H	4-OMe-fenilo
55	II-78	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-79	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
60	II-80	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-81	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-82	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	-CH ₂ Ph
65	II-83	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-84	CH ₃	3-piridilo	H	Ph

ES 2 307 667 T3

5	II-85	CH ₃	4-metoxi-pirid-3-ilo	H	Ph
	II-86	CH ₃	2-naftilo	H	Ph
	II-88	CH ₃	6-metoxi-naftalen-2-ilo	H	Ph
10	II-90	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	H	Ph
	II-91	CH ₃	4-metoxi-fenilo	CH ₃	Ph
	II-92	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	CH ₃	Ph
15	II-93	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	CH ₃	4-OMe-fenilo
	II-94	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	4-OMe-fenilo
	II-95	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	4-Cl-fenilo
20	II-96	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	Ph
	II-97	CH ₃	4-metoxi-fenilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
	II-98	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
25	II-99	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
	II-100	H	4-F-fenilo	CH ₃	Ph
	II-101	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	Ph
30	II-102	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	Ph
	II-103	H	ciclohexilo	CH ₃	2,6-difluoro-fenilo
35	II-104	H	ciclohexilo	CH ₃	3,5-dicloro-fenilo
	II-105	H	ciclohexilo	CH ₃	2,4-dicloro-fenilo
	II-106	H	ciclohexilo	CH ₃	Ph
40	II-107	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	Ph
	II-108	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	Ph
	II-109	H	fenilo	CH ₃	2,4-difluoro-fenilo
45	II-110	CH ₃	3-Cl-fenilo	H	fenilo
	II-111	H	fenilo	H	2,4-difluoro-fenilo
	II-112	H	ciclohexilo	H	fenilo
50	II-113	H	3-Br-fenilo	CH ₃	fenilo
	II-114	H	3-I-fenilo	CH ₃	fenilo
	II-115	H	2-cloropiridin-5-ilo	CH ₃	fenilo
55	II-116	H	fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-117	H	4-F-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-118	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
60	II-119	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-120	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
65	II-121	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-122	H	2,6-difluorofenilo	CH ₃	fenilo

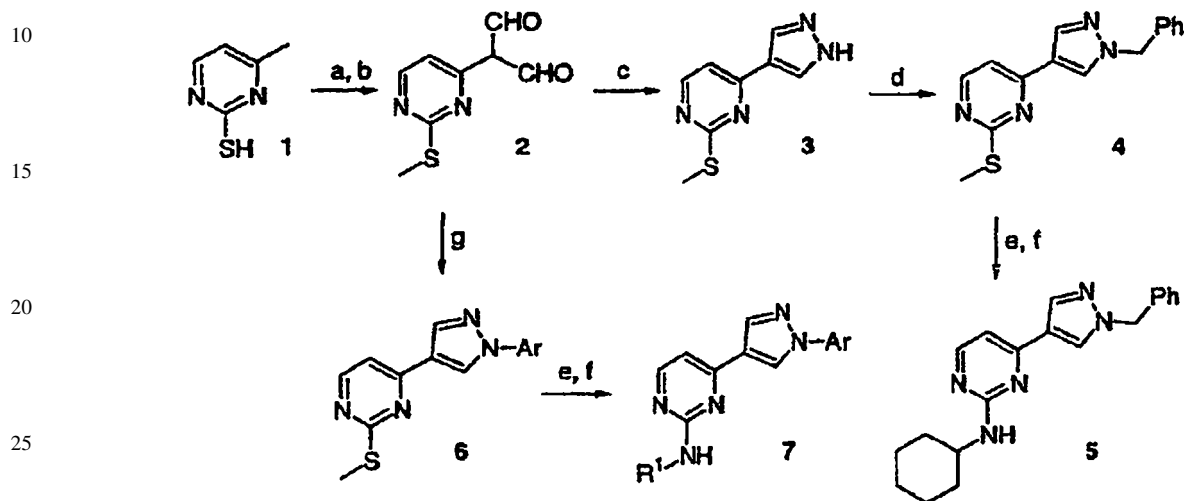
ES 2 307 667 T3

5	II-123	H	fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-124	H	4-F-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-125	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-126	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
10	II-127	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-128	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-129	H	naftalen-2-ilo	CH ₃	fenilo
15	II-130	H	3,4-dimetoxifenilo	CH ₃	fenilo
	II-131	H	fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
20	II-132	H	4-F-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-133	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-134	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
25	II-135	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-136	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-137	H	3-F-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
30	II-138	H	3-cloro-4-metoxifenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-139	H	naftalen-2-ilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-141	H	3-OH-fenilo	CH ₃	fenilo
35	II-142	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	fenilo
	II-143	H	4-SO ₂ NH ₂ -fenilo	CH ₃	fenilo
40	II-144	H	4-SO ₂ NH ₂ -fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-145	H	3-NH ₂ -fenilo	CH ₃	fenilo
	II-146	CH ₂ CH ₃	3-fenoksi-fenilo	CH ₃	fenilo
45	II-147	CH ₂ CH ₃	3-metoksi-fenilo	CH ₃	4-F-fenilo
	II-148	CH ₂ CH ₃	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	4-F-fenilo
	II-149	CH ₂ CH ₃	3-Cl-fenilo	CH ₃	4-F-fenilo
50	II-150	CH ₂ CH ₃	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	3-NO ₂ -fenilo
	II-151	CH ₂ CH ₃	3-metoksi-fenilo	CH ₃	3-NO ₂ -fenilo
	II-152	CH ₂ CH ₃	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	3-CF ₃ -fenilo
55	II-153	CH ₂ CH ₃	3-fenoksi-fenilo	CH ₃	3-CF ₃ -fenilo
	II-154	CH ₂ CH ₃	3-Cl-fenilo	CH ₃	3-CF ₃ -fenilo
	II-155	CH ₂ CH ₃	3-metoksi-fenilo	CH ₃	3-CF ₃ -fenilo
60	II-156	CH ₂ CH ₃	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo
	II-157	CH ₂ CH ₃	3-fenoksi-fenilo	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo
	II-158	CH ₂ CH ₃	3-Cl-fenilo	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo
65	II-159	CH ₂ CH ₃	3-metoksi-fenilo	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo

Los compuestos de este invento pueden ser preparados, en general, mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica para compuestos análogos, como se ilustra mediante los esquemas generales siguientes y mediante los ejemplos preparativos que les siguen.

5

Esquema I

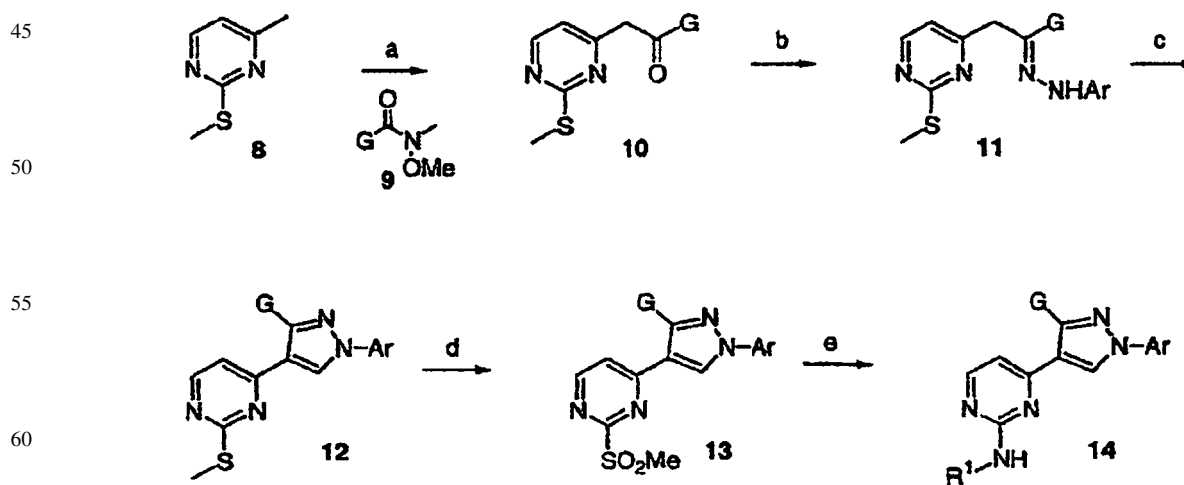


30 Reactivos y condiciones: (a) MeI, NaOH (acuoso); (b) COCl₂, DMF, CHCl₃; (c) NH₂NH₂, MeOH, 65°C; (d) bromuro de bencilo, CH₃CN, K₂CO₃; (e) Oxone[®], MeOH/H₂O (1:1); (f) R¹NH₂, DMSO, 85°C, o R¹NH₂ (puro), 100°C; (g) ArNHNH₂, MeOH, 65°C.

35 En el Esquema I anterior se muestra un esquema sintético que puede ser utilizado para preparar compuestos del presente invento en que tanto G como R² son hidrógeno. Oxone[®] es peroximonosulfato de potasio. Con fines ilustrativos, en las operaciones del compuesto 3 para preparar el compuesto 5 se introducen R¹ como un grupo ciclohexilo y R³ como un grupo bencilo. Un experto en la técnica entenderá que se pueden introducir otros grupos R¹ y R³ de un modo similar usando otras R¹-aminas y otros bromuros de R³ o similares.

40

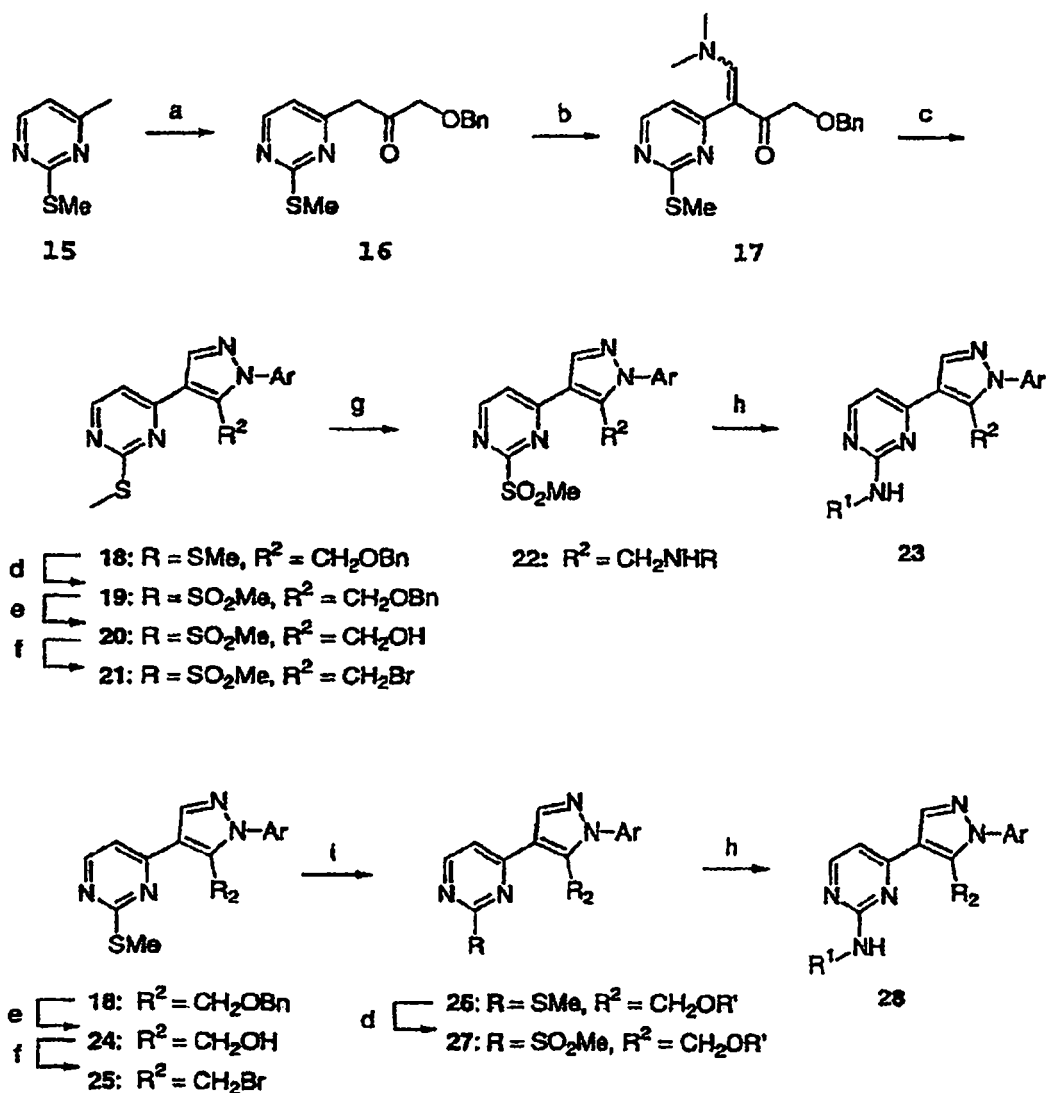
Esquema II



65 Reactivos y condiciones: (a) i: LDA, THF, -78°C; ii: 9, -78°C → 0°C; (b) ArNHNH₂, MeOH, 100°C; (c) DMF-DMA, 100°C; (d) Oxone[®], MeOH/H₂O (1:1); (e) R¹NH₂, DMSO, 80°C, o R¹NH₂ (puro), 100°C.

En el Esquema II anterior se muestra un esquema sintético que puede ser utilizado para preparar compuestos del presente invento en que R² es hidrógeno y G es distinto de hidrógeno.

Esquema III

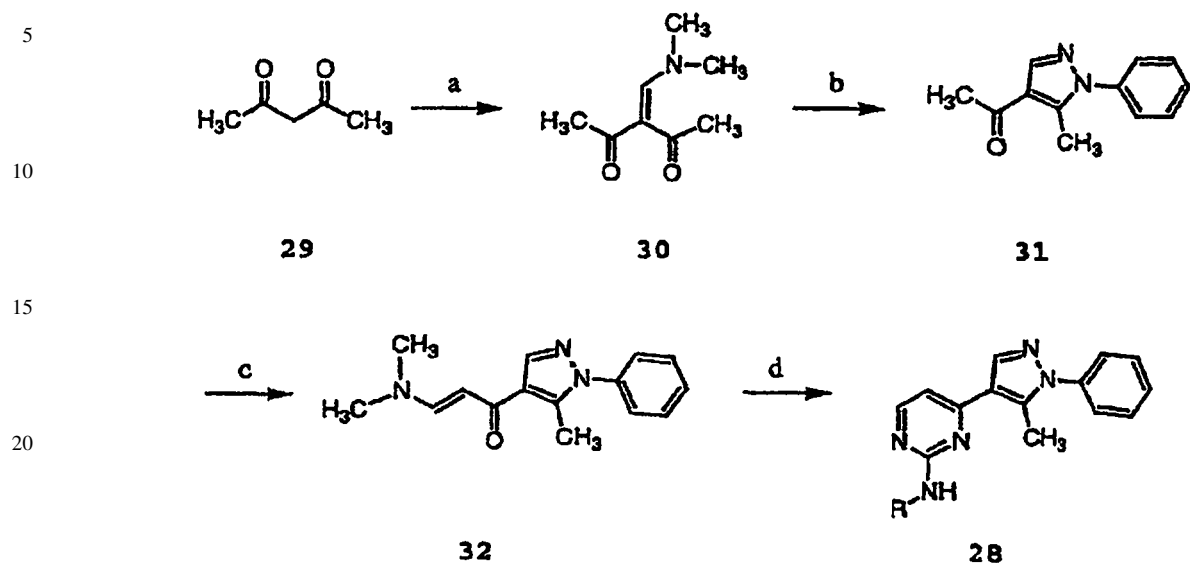


Reactivos y condiciones: (a) i: LDA, THF, -78°C; ii: BnOCH₂CON(OCH₃)CH₃, -78°C → 0°C; (b) DMF-DMA, 50°C; (c) ArNHNH₂, EtOH, 80°C; (d) Oxone[®], MeOH/H₂O (1:1); (e) TMSI, CHCl₃; (f) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂; (g) RNH₂, DMF; (h) R¹NH₂, DMF, 40°C, o R¹NH₂ (puro), 100°C; (i) NaH, R'OH, THF.

En el Esquema III anterior se muestra un esquema sintético para preparar compuestos de este presente invento en que G es hidrógeno y R² es distinto de hidrógeno. Aunque en los esquemas anteriores se describen rutas para compuestos en que Q es un anillo de pirimidina, a un experto en la técnica le resultará evidente que se pueden preparar de un modo análogo compuestos en que Q sea un anillo de piridina.

ES 2 307 667 T3

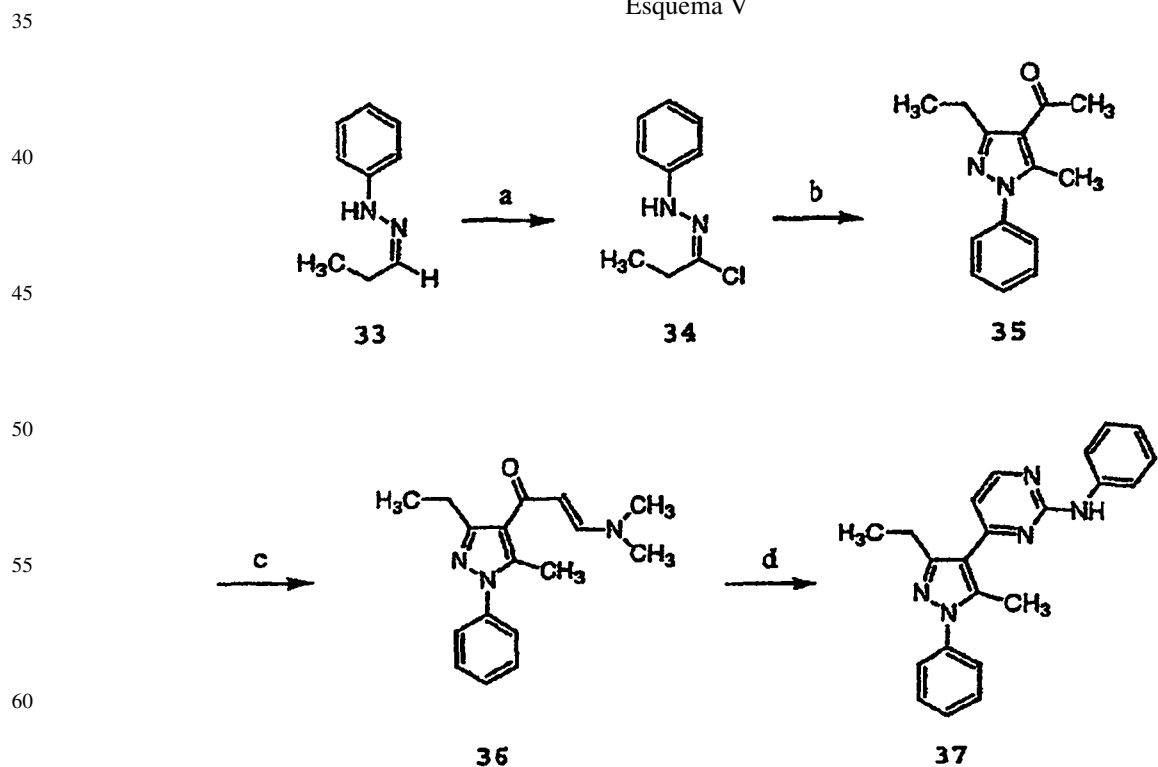
Esquema IV



Reactivos y condiciones: (a) dimetilformamida-dimetilacetal (DMF-DMA), CH_3CN , 80°C ; (b) Ph-NHNH_2 , MeOH ; (c); dimetilformamida-dimetilacetal (DMF-DMA), CH_3CN , 80°C , 18 h; (d) RNHC(=NH)NH_2 , CH_3CN , 80°C , 24 h.

En el anterior Esquema IV se muestra una ruta alternativa para la preparación de los compuestos presentes, en que el anillo de pirimidina se crea al final de la síntesis (operación d).

Esquema V



65 Reactivos y condiciones: (a) N-clorosuccinimida, $(\text{CH}_3)_2\text{S}$, CH_2Cl_2 , -78°C ; (b) $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{CH}_2$, EtOH , NaOH , temperatura ambiental; (c) dimetilformamida-dimetilacetal (DMF-DMA), tolueno, reflujo; (d) PhNHC(=NH)NH_2 , NaOMe , MeOH , reflujo, 36 h (tubo sellado).

ES 2 307 667 T3

En el anterior Esquema V se muestra una ruta alternativa para la preparación de los compuestos presentes en que R² es distinto de hidrógeno. Después de las reacciones y las condiciones de procesamiento estándares, los compuestos 34 y 36 fueron utilizados sin purificación en la operación siguiente. El compuesto 35 fue purificado mediante cromatografía en columna y el compuesto 37 fue purificado mediante cromatografía de alta eficacia en fase líquida (HPLC; del inglés, *high performance liquid chromatography*), de tipo preparativo. Aunque esta ruta se ilustra para el compuesto 37, un experto en la técnica apreciará que este procedimiento general es aplicable a la preparación de compuestos que tengan otros grupos G y R¹-R³.

Se halló que los compuestos de este invento son inhibidores sorprendentemente potentes de las tres isoformas de JNK (JNK1, JNK2 y JNK3). Se halló que una diferencia significativa entre los compuestos presentes y los compuestos de la técnica anterior más íntimamente relacionados radicaba en la inhibición mejorada de JNK1 y en la selectividad para la actividad JNK con respecto a la actividad p38, como se describe más adelante.

La actividad de los inhibidores de JNK de este invento puede ser ensayada *in vitro*, *in vivo* o en una línea celular. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos que permiten determinar la inhibición de la actividad quinasa o la actividad ATPasa de la JNK activada. Véanse, por ejemplo, los ejemplos de prueba descritos más adelante. Ensayos *in vitro* alternativos permiten cuantificar la capacidad del inhibidor para unirse a JNK, capacidad que puede ser medida radiomarcando el inhibidor antes de la unión, aislando el complejo de inhibidor/JNK y determinando la cantidad de radiomarcador unido, o llevando a cabo un experimento de competición en el que se incuban nuevos inhibidores con JNK unida a radioligandos conocidos. Se puede utilizar cualquier tipo o isoforma de JNK dependiendo de qué tipo o isoforma de JNK se va a inhibir.

Los inhibidores de JNK o las sales farmacéuticas de los mismos se pueden formular en composiciones farmacéuticas para administración a animales o seres humanos. Estas composiciones farmacéuticas, que comprenden un inhibidor de JNK en una cantidad eficaz para tratar o prevenir un estado mediado por JNK, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, son otra realización del presente invento.

La expresión “estado mediado por JNK”, como se utiliza aquí, significa cualquier enfermedad u otro estado deletéreo en que se sabe que JNK desempeña un papel. Dichos estados incluyen, sin limitación, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos óseos destructivos, trastornos proliferativos, cáncer, enfermedades infecciosas, enfermedades neurodegenerativas, alergias, reperfusión/isquemia en ictus, ataques al corazón, trastornos angiogénicos, hipoxia orgánica, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, agregación de plaquetas inducida por trombina, y estados asociados con la prostaglandina endoperoxidasa sintasa 2.

Las enfermedades inflamatorias que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, alergias y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto.

Las enfermedades autoinmunes que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, glomerulonefritis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, tiroiditis crónica, enfermedad de Graves, gastritis autoinmune, diabetes, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, dermatitis atópica, hepatitis activa crónica, *miastenia gravis*, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, psoriasis, y enfermedad del injerto contra el huésped.

Los trastornos óseos destructivos que pueden ser tratados o prevenidos mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, osteoporosis, osteoartritis y trastorno óseo relacionado con mieloma múltiple.

Las enfermedades proliferativas que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi, mieloma múltiple y tumorigénesis mediada por HTLV-1.

Los trastornos angiogénicos que pueden ser tratados o prevenidos mediante los compuestos de este invento incluyen tumores sólidos, neovascularización ocular y hemangiomas infantiles.

Las enfermedades infecciosas que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, sepsis, choque séptico y Shigelosis.

Las enfermedades víricas que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, infección hepática aguda (incluyendo la hepatitis A, la hepatitis B y la hepatitis C), infección por HIV y retinitis por CMV.

Las enfermedades neurodegenerativas que pueden ser tratadas o prevenidas mediante los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), epilepsia, convulsiones, enfermedad de Huntington, lesión cerebral traumática, ictus isquémico y hemorrágico, isquemias cerebrales y enfermedad neurodegenerativa, incluyendo la enfermedad neurodegenerativa impulsada a apoptosis, causada por lesión traumática, hipoxia aguda, isquemia o neurotoxicidad por glutamato.

Los “estados mediados por JNK” también incluyen isquemia/reperusión en ictus, ataques al corazón, isquemia miocárdica, hipoxia orgánica, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, isquemia hepática, enfermedad hepática, insuficiencia cardíaca congestiva, respuestas inmunes patológicas tales como las causadas por activación de células T, y agregación de plaquetas inducida por trombina.

Además, los inhibidores de JNK del presente invento pueden ser capaces de inhibir la expresión de proteínas proinflamatorias inducibles. Por lo tanto, otros “estados mediados por JNK” que pueden ser tratados mediante los compuestos de este invento incluyen edema, analgesia, fiebre y dolores, tales como dolor neuromuscular, dolor de cabeza, dolor canceroso, dolor dental y dolor artrítico.

Los compuestos de este invento son también útiles como inhibidores de quinasas de la familia Src, especialmente Src y Lck. Para una revisión general de estas quinasas, véanse Thomas y Brugge, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13: 513 (1997); Lawrence y Niu, *Pharmacol. Ther.* 77: 81 (1998); y Tatosyan y Mizenina, *Biochemistry (Moscow)* 65: 49 (2000). En consecuencia, estos compuestos son útiles para tratar enfermedades o estados conocidos por ser afectados por la actividad de una o más quinasas de la familia Src. Dichas enfermedades o estados incluyen hipercalcemia, reestenosis, osteoporosis, osteoartritis, tratamiento sintomático de la metástasis ósea, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple, psoriasis, lupus, enfermedad del injerto contra el huésped, enfermedad de hipersensibilidad mediada por células T, tiroiditis de Hashimoto, síndrome de Guillain-Barre, trastorno pulmonar obstructivo crónico, dermatitis de contacto, cáncer, enfermedad de Paget, asma, lesión isquémica o por reperusión, enfermedad alérgica, dermatitis atópica y rinitis alérgica. En particular, las enfermedades que son afectadas por la actividad Src incluyen hipercalcemia, osteoporosis, osteoartritis, cáncer, tratamiento sintomático de la metástasis ósea, y enfermedad de Paget. En particular, las enfermedades que son afectadas por la actividad Lck incluyen enfermedades autoinmunes, alergias, artritis reumatoide y leucemia. Los compuestos de fórmula II en que R¹ es arilo son especialmente útiles para tratar enfermedades asociadas con las quinasas de la familia Src, particularmente Src y Lck.

Además de los compuestos de este invento, también se pueden emplear sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de este invento en composiciones para tratar o prevenir los trastornos anteriormente identificados.

Una “sal farmacéuticamente aceptable” de un compuesto de este invento significa cualquier sal farmacéuticamente aceptable que, tras su administración a un receptor, es capaz de proporcionar directa o indirectamente un compuesto de este invento o un metabolito o residuo inhibitoriamente activo del mismo. Son sales particularmente favorecidas aquéllas que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de este invento cuando dichos compuestos son administrados a un mamífero (por ejemplo, al permitir que un compuesto oralmente administrado sea más fácilmente absorbido por la sangre) o que potencian la distribución del compuesto originario en un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o el sistema linfático) con respecto a la especie originaria.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de este invento incluyen, sin limitación, ésteres, ésteres de aminoácido, ésteres de fosfato, sales metálicas y ésteres de sulfonato.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de este invento incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales de ácido adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canfosulfonato, ciclo-pentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicero-fosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosílato y undecanoato. Otros ácidos, tal como el ácido oxálico, aunque no son farmacéuticamente aceptables en sí, pueden ser empleados en la preparación de sales útiles como productos intermedios para obtener los compuestos del invento y sus sales farmacéuticamente aceptables por adición de ácido.

Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio y potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amonio y N⁺(alquilo C₁₋₄)₄. Este invento también concibe la cuaternización de cualesquier grupos básicos que contengan nitrógeno de los compuestos aquí descritos. Mediante dicha cuaternización se pueden obtener productos solubles o dispersables en agua o aceite.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en estas composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, agentes intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tal como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicocola, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tal como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato potásico, cloruro sódico, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

Las composiciones del presente invento pueden ser administradas oral, parenteral, tópica, rectal, nasal, bucal o vaginalmente, pulverizadas para inhalación, o por medio de un depósito implantado. Como se utiliza aquí, el término “parenteral” incluye técnicas de inyecciones subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal, y técnicas de infusión. Preferiblemente, las composiciones se administran oral, intraperitoneal o intravenosamente.

Las formas inyectables estériles de las composiciones de este invento pueden ser suspensiones acuosas u oleaginosas. Estas suspensiones pueden ser formuladas de acuerdo con técnicas conocidas en este campo técnico utilizando agentes dispersivos o humectantes y agentes suspendedores adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico y parenteralmente aceptable, tal como, por ejemplo, una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden ser empleados están el agua, la disolución de Ringer y una disolución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como medio disolvente o suspendedor. Con este fin se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono- y di-glicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de productos inyectables, como lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como el aceite de oliva y el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas disoluciones o suspensiones oleosas pueden contener también un agente dispersivo o diluyente de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa, o agentes dispersivos similares que se utilizan habitualmente en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables, incluyendo emulsiones y suspensiones. Para los fines de formulación, se pueden utilizar también otros agentes tensioactivos comúnmente usados, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsivos o agentes potenciadores de la biodisponibilidad que se utilizan habitualmente en la fabricación de formas de dosificación sólidas, líquidas o demás farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas de este invento pueden ser oralmente administradas en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, incluyendo, pero sin limitarse a, cápsulas, tabletas y suspensiones o disoluciones acuosas. En el caso de tabletas para uso oral, los vehículos comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden típicamente agentes lubricantes, tal como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón secado de maíz. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el ingrediente activo es combinado con agentes emulsivos y suspendedores. Si se desea, también se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de este invento pueden ser administradas en forma de supositorios para administración rectal. Estos pueden ser preparados al mezclar el agente con un adecuado excipiente no irritante que sea sólido a temperatura ambiental pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se funda en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas de este invento pueden ser también administradas tópicamente, especialmente cuando el objetivo del tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel y el tracto intestinal inferior. Para cada una de estas zonas u órganos se preparan fácilmente formulaciones tópicas adecuadas.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede ser efectuada mediante una formulación de supositorio rectal (véase más atrás) o una adecuada formulación de enema. Se pueden también usar parches tópicamente transdérmicos.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas en un ungüento adecuado que contenga el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para la administración tópica de los compuestos de este invento incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, parafina líquida, vaselina, propilenglicol, polioxietileno, compuestos de polioxipropileno, cera emulsiva y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas en una loción o crema adecuada que contenga los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas como suspensiones micronizadas en disolución salina estéril e isotónica con pH ajustado, o, preferiblemente, como disoluciones en disolución salina estéril e isotónica con pH ajustado, con o sin un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas en un ungüento tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticas de este invento pueden ser también administradas mediante aerosoles nasales o mediante inhalación. Dichas composiciones son preparadas de acuerdo con técnicas bien conocidas en el campo de la formulación farmacéutica y pueden ser preparadas como disoluciones en disolución salina empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, agentes activadores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarburos y/o otros agentes solubilizadores o dispersivos convencionales.

La cantidad de inhibidor de JNK que puede ser combinada con los materiales vehiculares para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Preferiblemente, las composiciones deberían ser formuladas para que se pudiera administrar una dosis de entre 0,01 y 100 mg del inhibidor/kg de peso corporal/día al paciente que va a recibir estas composiciones.

Ha de entenderse además que la dosificación y el régimen de tratamiento específicos para cualquier paciente concreto dependerán de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el momento de la administración, la velocidad de excreción,

ES 2 307 667 T3

la combinación de fármacos, la opinión del médico que le atiende y la gravedad de la enfermedad concreta que se trata. La cantidad de inhibidor también dependerá del compuesto concreto presente en la composición.

De acuerdo con otra realización, el invento proporciona métodos para tratar o prevenir un estado mediado por JNK, que comprende la operación de administrar una de las composiciones farmacéuticas anteriormente descritas a un paciente. El término "paciente", como se utiliza aquí, significa un animal, preferiblemente un ser humano.

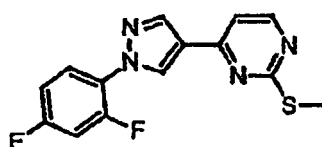
Preferiblemente, ese método se usa para tratar o prevenir un estado seleccionado entre enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos óseos destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, enfermedades degenerativas, enfermedades neurodegenerativas, alergias, reperfusión/isquemia en ictus, ataques al corazón, trastornos angiogénicos, hipoxia orgánica, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca y agregación de plaquetas provocada por trombina, o cualquier enfermedad o trastorno específico anteriormente descrito.

Dependiendo del particular estado mediado por JNK que se va a tratar o prevenir, junto con los inhibidores de este invento se pueden administrar fármacos adicionales que son normalmente administrados para tratar o prevenir ese estado. Por ejemplo, para tratar enfermedades proliferativas, se pueden combinar agentes quimioterapéuticos u otros agentes antiproliferativos con los inhibidores de JNK de este invento.

Esos agentes adicionales pueden ser administrados separadamente de la composición que contiene el inhibidor de JNK, como parte de un régimen de dosificación múltiple. Alternativamente, esos agentes pueden ser parte de una forma de dosificación única, mezclados junto con el inhibidor de JNK en una sola composición.

Con objeto de que el invento aquí descrito pueda ser entendido en su totalidad, se exponen los ejemplos siguientes. Ha de entenderse que estos ejemplos son sólo con fines ilustrativos y que de ningún modo han de considerarse restrictivos de este invento.

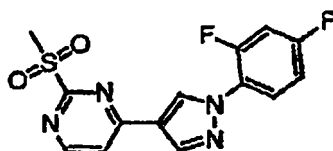
Ejemplo 1



4-[1-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirazol-4-il]-2-metanosulfanil-pirimidina

Se cargaron 400 mg (2,04 milimoles, 1,00 equivalentes) de 2-(2-metanosulfanil-pirimidin-4-il)-malonaldehído (obtenido de acuerdo con Brown *et al.*, *Aust. J. Chem.* 33 (10): 2291-2298, 1980), 400 mg de 2,4-difluorofenilhidrazina (2,78 milimoles, 1,36 equivalentes) y 10 ml de metanol en un matraz de fondo redondo, de 25 ml de capacidad, provisto de una varilla agitadora. La disolución resultante fue agitada a 65°C durante 12 horas y fue luego concentrada hasta un aceite amarillo que fue purificado por cromatografía en gel de sílice (CH₂Cl₂, 15 x 1 cm) para obtener 315 mg (1,04 milimoles, 50,7% de rendimiento) del producto en forma de espuma amarilla.

Ejemplo 2

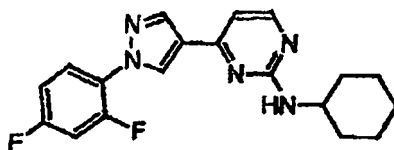


4-[1-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirazol-4-il]-2-metanosulfonil-pirimidina

Se añadieron 500 mg de Oxone®, de una sola vez, a una disolución agitada de 315 mg de 4-[1-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirazol-4-il]-2-metanosulfanil-pirimidina (1,04 milimoles, 1 equivalente) en 20 ml de una mezcla 1:1 (volumen:volumen) de metanol y agua. La mezcla de reacción fue dejada en agitación 12 horas a 25°C y fue luego sometida a reparto entre CH₂Cl₂ y agua. La capa acuosa fue lavada dos veces con CH₂Cl₂, y las capas orgánicas fueron combinadas y fueron secadas sobre Na₂SO₄ anhidro. La disolución fue concentrada para obtener un sólido amarillo que fue usado sin una purificación ulterior. Resonancia magnética nuclear (NMR; del inglés, nuclear magnetic resonance) de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ, 8,805 (1 H, d, J = 5 Hz, Ar), 8,66 (1 H, d, J = 3 Hz, Ar), 8,31 (1 H, s, Ar), 7,90-7,89 (1 H, m, Ar), 7,62 (1 H, d, J = 5 Hz, Ar), 7,07-7,03 (2 H, m, Ar), 3,39 (3 H, s, SCH₃) ppm.

ES 2 307 667 T3

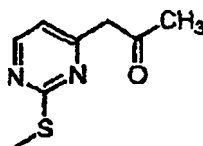
Ejemplo 3



Ciclohexil-[4-[1-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirazol-4-il]-pirimidin-2-il]-amina

Se cargaron 265 mg (0,787 milimoles, 1 equivalente) de 4-[1-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirazol-4-il]-2-metanosulfo-
 nil-pirimidina, disueltos en 5 ml de DMSO, en un matraz de fondo redondo y 25 ml de capacidad provisto de una
 varilla agitadora. Se añadieron 100 μ l de ciclohexilamina (86,7 mg, 0,874 milimoles, 1,10 equivalentes) a la diso-
 lución agitada. La disolución resultante fue calentada a 85°C y fue agitada durante 12 horas. La disolución naranja
 fue luego sometida a reparto entre CH₂Cl₂ y agua. La capa acuosa fue sometida dos veces a extracción con 20 ml de
 CH₂Cl₂, y las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas hasta un aceite amarillo que
 fue purificado por cromatografía en gel de sílice (CH₂Cl₂:EtOAc, 1:1; R_f = 0,2) para obtener 35 mg (0,098 milimoles,
 12,5% de rendimiento) de producto en forma de espuma. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ , 8,37 (1 H, d, J = 3 Hz, Ar),
 8,17 (1 H, d, J = 5 Hz, Ar), 8,11 (1 H, s, Ar), 7,83-7,79 (1 H, m, Ar), 6,97-6,94 (2 H, m, Ar), 6,64 (1 H, J = 5 Hz,
 Ar), 5,04 (1 H, s ancho, NH), 3,82-3,80 (1 H, m, cy-Hx), 2,01-1,97 (3 H, m, cy-Hx), 1,70-1,67 (2 H, m, cy-Hx), 1,59-
 1,57 (1 H, m, cy-Hx), 1,37-1,35 (2 H, m, cy-Hx), 1,20-1,16 (2 H, m, cy-Hx) ppm. Espectrometría de masas (MS; del
 inglés, mass spectrometry) (M+H): 356,15.

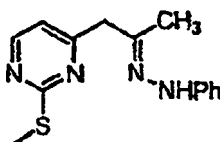
Ejemplo 4



1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-propan-2-ona

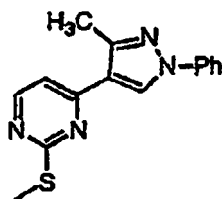
Se añadió gota a gota una disolución de diisopropilamido de litio (1,5 M en ciclohexano) a una disolución agitada
 de 4-metil-2-(metiltio)pirimidina (5,23 g, 38,0 milimoles) y fenantrolina (10 mg) en THF (100 ml), a -78°C, hasta que
 se destruyó todo el agua y la disolución se volvió oscura (~ 1 ml). Luego se añadió lentamente más diisopropilamido
 de litio (30,4 ml) a lo largo de 5 minutos. Después de 15 minutos a -78°C, se dejó que se calentara la disolución a 0°C y,
 después de 15 minutos, se volvió a enfriar la disolución a -78°C. Luego se añadió gota a gota a lo largo de 20 minutos,
 mediante un embudo de goteo, una disolución de N-metoxi-N-metil-acetamida (4,72 ml, 45,6 milimoles) en THF (15
 ml) que había sido secada durante 1 hora sobre 4 tamices moleculares. Después de 25 minutos a -78°C, la disolución
 fue calentada a 0°C y fue agitada durante 30 minutos. La disolución fue vertida en HCl diluido (1 M, 100 ml), sometida
 a extracción con Et₂O (3 x 200 ml), secada (MgSO₄), filtrada y concentrada. Una cromatografía de resolución rápida
 (SiO₂, EtOAc al 20%-hexanos) proporcionó el producto (4,75 g, 26,1 milimoles, 69% de rendimiento).

Ejemplo 5



N-[1-metil-2-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)etilideno]-N'-fenil-hidrazina

Se calentó a 100°C, durante 15 minutos, una disolución agitada de 1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-propan-2-ona
 (182 mg, 1,00 milimoles) y fenilhidrazina (99 μ l, 1,00 milimoles) en EtOH seco (2 ml) en un tubo sellado. La mezcla
 de reacción fue concentrada *in vacuo* para obtener el producto crudo en forma de pasta amarilla.



5

10

4-(3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-2-metilsulfanil-pirimidina

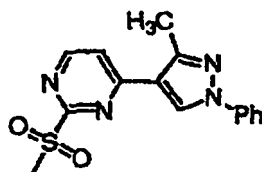
15

Se añadió dimetilformamida-dimetoxiacetal (DMF-DMA; 1,33 ml, 10 milimoles) a la pasta cruda anteriormente preparada. La disolución resultante fue calentada a 100°C en un tubo sellado durante tres días. La disolución fue enfriada y fue vertida en H₂O (15 ml), y la mezcla fue sometida a extracción con EtOAc (3 x 15 ml). Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con una disolución saturada de NH₄Cl (15 ml) y con salmuera (15 ml), secados (MgSO₄), filtrados y concentrados. Una cromatografía de resolución rápida (SiO₂, EtOAc al 30%-hexanos) proporcionó el producto (225 mg, 0,800 milimoles, 80%).

20

Ejemplo 6

25



30

35

2-metanosulfonil-4-(3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-pirimidina

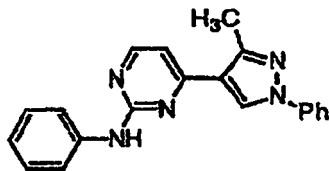
40

Se añadió gota a gota una disolución de Oxone® (1,48 g, 2,40 milimoles) en H₂O (8 ml), a lo largo de 20 minutos, a una disolución agitada de 4-(3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-2-metilsulfanil-pirimidina (225 mg, 0,800 milimoles) en MeOH (8 ml) a temperatura ambiental. Después de 16 horas, la disolución fue vertida en H₂O (50 ml) y fue sometida a extracción con CH₂Cl₂ (4 x 25 ml). Los extractos combinados fueron secados (MgSO₄), filtrados y concentrados para obtener el producto (239 mg, 0,760 milimoles, 95%).

45

Ejemplo 7

50



55

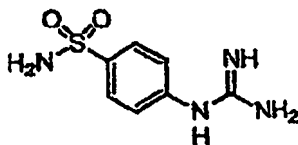
[4-(3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-pirimidin-2-il]-fenilamina

60

Se calentó a 100°C, durante 15 horas, una mezcla de 2-metanosulfonil-4-(3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-pirimidina (38 mg, 0,12 milimoles) y anilina (pura, 100 µl). Los componentes volátiles fueron evaporados bajo una corriente de nitrógeno tras calentamiento. Una recrystalización en metanol proporcionó el producto (23 mg, 0,070 milimoles) con un 58% de rendimiento.

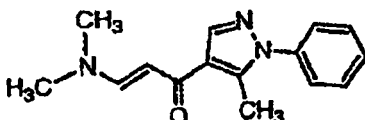
65

Ejemplo 8

10 *4-guanidino-benzenosulfonamida*

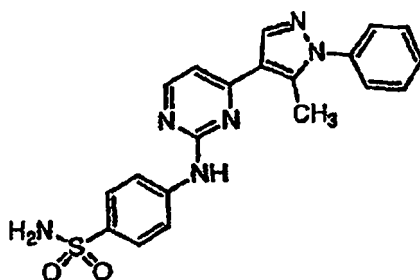
Se agitaron 4-amino-benzenosulfonamida (30 milimoles, 1 equivalente), cianamida (1,3 g, 31 milimoles, 1,03 equivalentes) y cloruro de hidrógeno 4 N en dioxano (8 ml, 32 milimoles) durante 10 minutos a temperatura ambiental y se calentó la mezcla a 80°C durante 18 horas. La mezcla fue diluida con agua (30 ml) y éter dietílico (50 ml). La capa acuosa fue lavada con éter (30 ml), y las capas orgánicas fueron desechadas. La capa acuosa fue neutralizada con HCl acuoso 6 N (6 ml) y fue diluida con acetato de etilo (50 ml). La capa acuosa fue sometida cuatro veces a extracción con acetato de etilo (50 ml). Las capas orgánicas combinadas fueron concentradas bajo presión reducida para obtener un compuesto sólido que fue lavado con éter dietílico (30 ml) para obtener el compuesto del título de color amarillo pálido. El compuesto fue caracterizado por LC/MS y HPLC.

Ejemplo 9

30 *3-dimetilamino-1-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-propenona*

Se disolvió 1-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-etanona (10 milimoles) en acetonitrilo (5 ml) y DMF-DMA (2 ml) y se hizo refluir la disolución durante 18 h. Se eliminó el disolvente y se trituroó el residuo con éter (20 ml), y el sólido amarillo fue separado por filtración y fue lavado con éter (10 ml) para obtener el compuesto del título.

Ejemplo 10

50 *4-[4-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-pirimidin-2-ilamino]-benzenosulfonamida*

Se calentaron a reflujo 3-dimetilamino-1-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-propenona (0,2 milimoles) y 4-guanidino-benzenosulfonamida (0,2 milimoles) en acetonitrilo (0,25 ml) durante 24 horas y se diluyó la mezcla resultante con metanol (3 ml). La suspensión fue filtrada y el sólido fue lavado con metanol (2 ml) y fue secado bajo nitrógeno para obtener el compuesto del título. M+H (407,0); HPLC, Rt = 3,168. El análisis por HPLC se llevó a cabo con un sistema HP1100 para HPLC, y el método de análisis de ocho minutos se llevó a cabo del modo siguiente: (0 min, B al 10%; 1 min, B al 30%; 5 min, B al 90%; 6,5 min, B al 90%; 6,7 min, B al 10%), en que A es ácido trifluoroacético (TFA; del inglés, trifluoroacetic acid) al 0,01% en agua y B es TFA al 0,01% en acetonitrilo. La columna analítica era YMC ODS-AQ, 30 x 100 mm, y se usó un caudal de 1 ml/min y un detector de matriz de diodos (5 longitudes de onda controladas a 300, 280, 254, 220 y 210 nm) a 25°C.

Clonación, expresión y purificación de la proteína JNK3

Una búsqueda BLAST en la base de datos de EST usando el publicado cDNA de JNK3 α 1 como interrogante permitió identificar un clon de EST (n° 632588) que contenía la secuencia de codificación completa de la JNK3 α 1 humana. Se utilizaron reacciones en cadena de la polimerasa (PCR; del inglés, polymerase chain reaction) usando la

ES 2 307 667 T3

polimerasa *pfu* (Stratagene) para introducir sitios de restricción en el cDNA para la clonación en el vector de expresión pET-15B, en los sitios NcoI y BamHI. La proteína se expresó en *E. coli*. A causa de la escasa solubilidad de la proteína expresada de longitud completa (Met 1-Gln 422), se produjo una proteína N-terminalmente truncada que comenzaba en el resto de Ser de la posición 40 (Ser 40). Este truncamiento corresponde a la Ser 2 de las proteínas JNK1 y JNK2, y va precedido de una metionina (iniciación) y un resto de glicocola. El resto de glicocola se añadió con objeto de introducir un sitio NcoI para la clonación en el vector de expresión. Además, se llevaron a cabo truncamientos C-terminales sistemáticos por PCR para identificar una construcción que diera lugar a cristales de calidad para difracción. Una de dichas construcciones codifica los restos de aminoácido Ser 40-Glu 402 de JNK3 α 1 y va precedida de restos de Met y Gly.

La construcción se preparó por PCR usando los desoxiloligonucleótidos:

5' GCTCTAGAGCTCCATGGGCAGCAAAGCAAAGTTGACAA 3' (cebador directo con el codón de iniciación subrayado; ID. SEC. n° 1) y

5' TAGCGGATCCTCATTCTGAATTCATTACTTCCTTGTA 3' (cebador inverso con el codón de parada subrayado; ID. SEC. n° 2) como cebadores y se confirmó por secuenciación de DNA. Experimentos de control indicaron que la proteína JNK3 truncada tenía una actividad quinasa equivalente hacia la proteína básica de mielina cuando era activada *in vitro* con una quinasa MKK7 situada aguas arriba.

Se transformó la cepa BL21 de *E. coli* (DE3; Novagen) con la construcción de expresión de JNK3 y se cultivó a 30°C en medio LB complementado con 100 μ g/ml de carbenicilina, en matraces sacudidos, hasta que las células estuvieron en la fase logarítmica ($DO_{600} \sim 0,8$). Se añadió isopropiltio- β -D-galactosidasa (IPTG) hasta una concentración final de 0,8 mM y se recogieron las células 2 horas más tarde mediante centrifugación. La pasta de células de *E. coli* que contenía JNK3 fue resuspendida en 10 volúmenes/g de tampón de lisis [HEPES 50 mM, pH de 7,2, que contenía glicerol al 10% (volumen/volumen) NaCl 100 mM, DTT 2 mM, PMSF 0,1 mM, 2 μ g/ml de pepstatina, y 1 μ g/ml tanto de E-64 como de leupeptina]. Se lisaron las células sobre hielo usando un microfluidificador y se centrifugó el producto de lisis a 100.000 x g durante 30 min a 4°C. El sobrenadante de las 100.000 x g fue diluido 1:5 con Tampón A [HEPES 20 mM, pH de 7,0, glicerol al 10% (volumen/volumen) y DTT 2 mM] y fue purificado mediante cromatografía de intercambio catiónico en SP-Sepharose (Pharmacia; dimensiones de la columna: 2,6 x 20 cm) a 4°C. La resina fue lavada con 5 volúmenes de columna de Tampón A seguidos de 5 volúmenes de columna de Tampón A que contenía NaCl 50 mM. La JNK3 unida fue eluida con un gradiente lineal de 7,5 volúmenes de columna de NaCl 50-300 mM. La JNK3 resultó eluida con NaCl entre 150 y 200 mM.

35 Activación de JNK3

Se diluyeron cinco mg de JNK3 hasta 0,5 mg/ml en tampón de HEPES 50 mM, pH de 7,5, que contenía NaCl 100 mM, DTT 5 mM, MgCl₂ 20 mM y ATP 1 mM. Se añadió GST-MKK7 (DD) en una relación molar de 1:2,5 para GST-MKK7:JNK3. Después de una incubación a 25°C durante 30 minutos, la mezcla de reacción fue concentrada hasta la quinta parte mediante ultrafiltración en un dispositivo Centriprep-30 (Amicon, Beverly, Massachusetts, EE.UU.) y fue diluida hasta 10 ml, y se añadió un ATP 1 mM adicional. Éste procedimiento fue repetido tres veces para eliminar el ADP y reponer el ATP. La adición final de ATP fue de 5 mM, y la mezcla fue incubada durante la noche a 4°C.

La mezcla de reacción de JNK3 activada/GST-MKK7 (DD) fue sometida a intercambio en tampón de HEPES 50 mM, pH de 7,5, que contenía DTT 5 mM y glicerol al 5% (peso/volumen), mediante diálisis o ultrafiltración. La mezcla de reacción fue ajustada a fosfato potásico 1,1 M, pH de 7,5, y fue purificada mediante cromatografía de interacción hidrófoba (a 25°C) usando una columna Rainin Hydropore. La GST-MKK7 y la JNK3 inactivada no se unen bajo estas condiciones, por lo que, cuando se desarrolla un gradiente de fosfato potásico de 1,1 a 0,05 M a lo largo de 60 minutos, usando un caudal de 1 ml/min, la JNK3 doblemente fosforilada se separa de la JNK simplemente fosforilada. La JNK3 activada (es decir, la JNK3 doblemente fosforilada) fue guardada a -70°C en una concentración de 0,25-1 mg/ml.

Ensayos de inhibición de JNK

Se ensayaron los compuestos en cuanto a la inhibición de JNK3 mediante un ensayo enzimático espectrofotométricamente acoplado. En este ensayo, se incubó una concentración fija de JNK3 activada (10 nM) con diferentes concentraciones de un posible inhibidor disuelto en DMSO, durante 10 minutos a 30°C, en un tampón que contenía tampón de HEPES 0,1 M, pH de 7,5, que contenía MgCl₂ 10 mM, fosfoenolpiruvato 2,5 mM, NADH 200 μ M, 30 μ g/ml de piruvato quinasa, 10 μ g/ml de lactato deshidrogenasa, y péptido receptor de EGF 200 μ M. El péptido receptor de EGF tiene la secuencia KRELVEPLTPSGEAPNQALLR y es un aceptor de fosforilos en la reacción de quinasa catalizada por JNK3. Se inició la reacción mediante la adición de ATP 10 μ M y se insertó la placa de ensayo en el compartimento de placas de ensayo del espectrofotómetro, que fue mantenido a 30°C. Se registró la disminución de absorbancia a 340 nm en función del tiempo. Para determinar la K_i , los datos de velocidad en función de la concentración de inhibidor fueron ajustados a un modelo cinético de inhibición competitiva.

Los ensayos de JNK1 y JNK2 se llevaron a cabo de una forma análoga.

ES 2 307 667 T3

Clonación de quinasa p38 en células de insecto

Se han identificado dos variantes de corte y empalme de la quinasa p38 humana, CSBP1 y CSBP2. Se usaron cebadores oligonucleotídicos específicos para multiplicar la región de codificación del cDNA de CSBP2 utilizando un banco de células HeLa (Stratagene) como molde. El producto de la reacción en cadena de la polimerasa fue clonado en el vector pET-15b (Novagen). Se construyó el vector de transferencia de baculovirus, pVL-(His)₆-p38, al subclonar un fragmento XbaI-BamHI de pET15b-(His)₆-p38 en los sitios complementarios del plásmido pVL1392 (Pharmingen).

El plásmido pVL-(His)₆-p38 dirigía la síntesis de una proteína recombinante que consistía en un péptido de 23 restos (MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMLE, en que LVPRGS representa un sitio de escisión de trombina) fusionado en marco con el extremo N de p38, según se confirmó por secuenciación de DNA y por secuenciación N-terminal de la proteína expresada. Un cultivo de células del insecto *Spodoptera frugiperda* (Sf9) (ATCC) en monocapa fue mantenido en medio TNM-FH (Gibco BRL) complementado con suero bovino fetal al 10% en un matraz en T a 27°C. Las células Sf9 en fase logarítmica fueron cotransfectadas con DNA viral lineal del virus de la poliedrosis nuclear de *Autographa californica* (Pharmingen) y el vector de transferencia pVL-(His)₆-p38 usando Lipofectin (Invitrogen). Los clones baculovíricos recombinantes individuales fueron purificados mediante un ensayo de placas usando agarosa de bajo punto de fusión al 1%.

Expresión y purificación de la quinasa p38 recombinante

Células High-Five™ de *Trichoplusia ni* (Tn-368) (Invitrogen) fueron cultivadas en suspensión en medio Excel-405 exento de proteínas (JRH Bioscience) en un matraz agitado, a 27°C. Las células, en una densidad de 1,5 x 10⁶ células/ml, fueron infectadas con el baculovirus recombinante anteriormente descrito, con una multiplicidad de infección de 5. Se determinó el nivel de expresión de p38 recombinante mediante inmunotransferencia usando un anticuerpo anti-p38, generado en conejo (Santa Cruz Biotechnology). La masa celular fue recogida 72 horas después de la infección, cuando el nivel de expresión de p38 alcanzó su máximo.

La pasta celular congelada de células que expresaban la quinasa p38 marcada con (His)₆ fue descongelada en 5 volúmenes de Tampón A (NaH₂PO₄ 50 mM, pH de 8,0, NaCl 200 mM, β-mercaptoetanol 2 mM, glicerol al 10% y PMSF 0,2 mM). Después de la rotura mecánica de las células en un microfluidificador, el producto de lisis fue centrifugado a 30.000 x g durante 30 minutos. El sobrenadante fue incubado discontinuamente durante 3-5 horas a 4°C con la resina metálica de afinidad Talon™ (Clontech), en una relación de 1 ml de resina por 2-4 mg de la esperada p38. La resina fue sedimentada por centrifugación a 500 x g durante 5 minutos y fue suavemente lavada de forma discontinua con Tampón A. Se suspendió la resina y se vertió la suspensión en una columna (aproximadamente 2,6 x 5,0 cm), realizándose un lavado con Tampón A + imidazol 5 mM.

La quinasa (His)₆-p38 fue eluida con Tampón A + imidazol 100 mM y fue posteriormente dializada durante la noche a 4°C frente a 2 litros de Tampón B (HEPES 50 mM, pH de 7,5, β-glicerofosfato 25 mM, glicerol al 5% y DTT 2 mM). Se eliminó la etiqueta de His₆ mediante la adición de 1,5 unidades de trombina (calbiochem) por mg de p38 y la incubación a 20°C durante 2-3 horas. Se sofocó la trombina mediante la adición de PMSF 0,2 mM y luego se cargó la muestra entera en una columna de 2 ml de benzamidina-agarosa (American International Chemical).

La fracción de salida se cargó directamente en una columna de Q-Sepharose (Pharmacia), de 2,6 x 5,0 cm, previamente equilibrada en Tampón B + PMSF 0,2 mM. La quinasa p38 fue eluida con un gradiente lineal de 20 volúmenes de columna hasta NaCl 0,6 M en Tampón B. El pico proteico eluido fue recogido y fue dializado durante la noche a 4°C frente a Tampón C (HEPES 50 mM, pH de 7,5, glicerol al 5%, NaCl 50 mM, DTT 2 mM, y PMSF 0,2 mM).

La proteína dializada fue concentrada en un dispositivo Centriprep (Amicon) hasta 3-4 ml y fue aplicada a una columna de Sephacryl S-100HR (Pharmacia), de 2,6 x 100 cm. La proteína fue eluida con un caudal de 35 ml/h. El pico principal fue recogido, ajustado a DTT 20 mM, concentrado hasta 10-80 mg/ml, y congelado en partes alícuotas a -70°C o inmediatamente utilizado.

Activación de p38

Se activó p38 al combinar 0,5 mg/ml de p38 con 0,005 mg/ml de MKK6 doble mutante-DD en Tampón B + MgCl₂ 10 mM, ATP 2 mM y Na₂VO₄ 0,2 mM durante 30 minutos a 20°C. La mezcla de activación fue luego cargada en una columna de MonoQ (Pharmacia), de 1,0 x 10 cm, y fue eluida con un gradiente lineal de 20 volúmenes de columna hasta NaCl 1,0 M en Tampón B. La p38 activada fue eluida tras el ADP y el ATP. Se recogió el pico de p38 activada y se dializó frente a Tampón B + Na₂VO₄ 0,2 mM para eliminar el NaCl. La proteína dializada fue ajustada a fosfato de potasio 1,1 M mediante la adición de una disolución madre 4,0 M y fue cargada en una columna de HIC (Rainin Hydropore), de 1,0 x 10 cm, previamente equilibrada en Tampón D (glicerol al 10%, β-glicerofosfato 20 mM, y DTT 2,0 mM) + K₂HPO₄ 1,1 M. La proteína fue eluida con un gradiente lineal de 20 volúmenes de columna hasta Tampón D + K₂HPO₄ 50 mM. La p38 doblemente fosforilada fue eluida como pico principal y fue recogida para diálisis frente a Tampón B + Na₂VO₄ 0,2 mM. La p38 activada fue conservada a -70°C.

ES 2 307 667 T3

Ensayos de inhibición de p38

A. Inhibición de la fosforilación del péptido receptor de EGF

5 Este ensayo se lleva a cabo en presencia de $MgCl_2$ 10 mM y tampón de HEPES 100 mM con un pH de 7,6. Para una determinación típica de la concentración de inhibidor que produce un 50% de inhibición (IC_{50} ; del inglés, inhibitory concentration 50), se prepara una disolución madre que contiene todos los componentes anteriores y p38 activada (5 nM). La disolución madre se distribuye alícuotamente en viales. Se introduce un volumen fijo de DMSO o de inhibidor en DMSO (la concentración final de DMSO en la mezcla de reacción es 5%) en cada vial, se mezclan los
10 componentes y se incuba la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiental. Se añade péptido receptor de EGF, KRELVEPLTPSGEAPNQALLR, un aceptor de fosforilos en la reacción de quinasa catalizada por p38, a cada vial hasta una concentración final de 200 μM . Se inicia la reacción de quinasa con ATP (100 μM) y se incuban los viales a 30°C. Después de 30 minutos, se sofocan las reacciones con un volumen igual de ácido trifluoroacético (TFA) al 10%.

15 El péptido fosforilado es cuantificado mediante un análisis por HPLC. La separación del péptido fosforilado del péptido no fosforilado se lleva a cabo en una columna de fase inversa (Deltapak, 5 μm , C18 100D, artículo n° 011795) con un gradiente binario de agua y acetonitrilo, cada uno de los cuales contiene TFA al 0,1%. La IC_{50} es determinada representando gráficamente el % de actividad restante frente a la concentración de inhibidor.

20 B. Inhibición de actividad ATPasa

Este ensayo se lleva a cabo en presencia de $MgCl_2$ 10 mM, β -glicerofosfato 25 mM, glicerol al 10% y tampón de HEPES 100 mM con un pH de 7,6. Para una determinación típica de K_i , se determina la K_m para ATP en la actividad ATPasa de la reacción de p38 activada, en ausencia de inhibidor y en presencia de dos concentraciones de inhibidor.
25 La K_i se determina a partir de los datos de velocidad en función de las concentraciones de inhibidor y ATP. Se prepara una disolución madre que contiene todos los componentes anteriores y p38 activada (60 nM). La disolución madre se distribuye alícuotamente en viales. Se introduce un volumen fijo de DMSO o de inhibidor en DMSO (la concentración final de DMSO en la mezcla de reacción es 2,5%) en cada vial, se mezclan los componentes y se incuba la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiental. Se inicia la reacción añadiendo diversas concentraciones de ATP y luego
30 se realiza una incubación a 30°C. Después de 30 minutos, se sofocan las reacciones con 50 μl de EDTA (concentración final de 0,1 M), pH de 8,0. El producto de la actividad ATPasa de p38, ADP, es cuantificado mediante un análisis por HPLC.

35 La separación del ADP del ATP se lleva a cabo en una columna de fase inversa (Supelcosil, LC-18, 3 μm , artículo n° 5-8985) utilizando un gradiente binario de disolventes con la composición siguiente: Disolvente A - tampón de fosfato 0,1 M que contiene hidrogenosulfato de tetrabutilamonio 8 mM (Sigma Chemical Co., referencia T-7158 del catálogo); Disolvente B - Disolvente A con metanol al 30%.

40 En la Tabla 2 se muestran las actividades de compuestos seleccionados, en los ensayos de inhibición de JNK y p38. Los compuestos que tienen una K_i inferior a 2,0 micromolar son clasificados como "A", los compuestos que tienen una K_i entre 2,0 y 10 micromolar son clasificados como "B", y los compuestos que tienen una K_i superior a 10 micromolar son clasificados como "C". En la última columna se muestra una relación de actividad P38 a actividad JNK3 como una medida de la selectividad de los compuestos presentes.

45 TABLA 2

Actividades comparativas en los ensayos de inhibición

Nº	JNK1	JNK2	JNK3	p38	p38/JNK3
II-65	A	A	A	C	> 10
II-67	A	A	A	C	> 10
II-70	B	B	A	C	\geq 10
II-71	A	A	A	C	> 10
II-72	A	A	A	C	> 10
II-100	A	A	A	C	> 10
II-101	A	A	A	C	> 10
II-102	A	A	A	C	> 10

ES 2 307 667 T3

Como se puede ver en la Tabla 2, los compuestos de este invento presentan una buena actividad frente a las tres isoformas de JNK (JNK1, JNK2 y JNK3). Los presentes compuestos son mucho menos activos frente a p38 y proporcionan una buena selectividad para JNK, como se puede ver a partir de la relación p38/JNK3. Para compuestos típicos, se estima que la actividad inhibitoria sobre JNK es hasta dos o tres órdenes de magnitud mayor que la actividad inhibitoria sobre p38. Por contraste, los compuestos que tienen sustituyentes G mayores (por ejemplo, cuando G es fenilo o 4-fluoro-fenilo) serán mucho más activos frente a p38 y presentarán una peor selectividad para la enzima JNK.

Aunque hemos descrito diversas realizaciones de este invento, es evidente que nuestros ejemplos básicos pueden ser alterados para obtener otras realizaciones en que se utilicen los compuestos y métodos de este invento. Por lo tanto, se apreciará que el alcance de este invento va a ser definido por las reivindicaciones adjuntas en vez de por las realizaciones específicas que han sido representadas a modo de ejemplo.

15

20

25

30

35

40

45

50

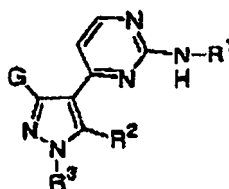
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula II:



II

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, fórmula en la que:

R¹ es seleccionado entre fenilo, ciclohexilo, piridilo, naftilo y quinoleinilo opcionalmente sustituidos;

R es un grupo alifático o alifático sustituido C₁ a C₁₂;

R² es seleccionado entre hidrógeno y -R;

R³ es seleccionado entre R, hidroxialquilo, alcoxialquilo, alquiltioalquilo, aminoalquilo, alquiaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, arilo, aralquilo y ariloxialquilo; y

G es hidrógeno o alquilo C₁₋₃;

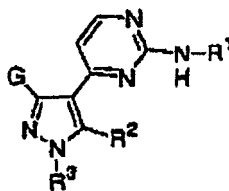
en que cada átomo de carbono sustituible de dicho fenilo, ciclohexilo, piridilo, naftilo o quinoleinilo opcionalmente sustituido, incluyendo el anillo fusionado cuando está presente, está opcional e independientemente sustituido con halógeno, R, OR, SR, OH, NO₂, CN, NH₂, NHR, N(R)₂, NHCOR, NHCONHR, NHCON(R)₂, NRCOR, NHCO₂R, CO₂R, CO₂H, COR, CONHR, CON(R)₂, S(O)₂R, SONH₂, S(O)R, SO₂NHR o NHS(O)₂R; y

en que cada átomo de nitrógeno sustituible de dicho piridilo o quinoleinilo opcionalmente sustituido está opcionalmente sustituido con R, COR, S(O)₂R o CO₂R.

2. Un compuesto de la Reivindicación 1, en que G es hidrógeno o metilo; R¹ es seleccionado entre fenilo, ciclohexilo, piridilo, naftilo y quinoleinilo; R² es seleccionado entre hidrógeno, metilo, alcoximetilo, benciloximetilo y heterocicliimetilo; y R³ es fenilo o bencilo; y en que cada R¹-R³ está opcionalmente sustituido.

3. Un compuesto de la Reivindicación 2, en que G es hidrógeno o metilo; R¹ es fenilo o ciclohexilo; R² es metoximetilo, metoxietoximetilo, etoximetilo, piperidin-1-ilmetilo, morfolin-4-ilmetilo o tetrahidrofuran-3-ilmetilo; y R³ es fenilo o bencilo; y en que cada R¹-R³ está opcionalmente sustituido.

4. Un compuesto de la Reivindicación 1, compuesto que tiene la fórmula II:



ES 2 307 667 T3

y es seleccionado entre los compuestos:

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Nº	G	R ¹	R ²	R ³
II-1	CH ₃	fenilo	H	Ph
II-2	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	Ph
II-3	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	Ph
II-4	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	Ph
II-5	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	Ph
II-6	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	Ph
II-7	CH ₃	4-fluoro-fenilo	H	Ph
II-8	CH ₃	4-COCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-9	CH ₃	4-CONH ₂ -fenilo	H	Ph
II-10	CH ₃	4-SCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-11	CH ₃	3-OCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-12	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	Ph
II-13	CH ₃	4-CO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
II-14	CH ₃	4-SO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
II-15	CH ₃	4-CO ₂ CH ₃ -fenilo	H	Ph
II-16	CH ₃	4-N(CH ₃) ₂ -fenilo	H	Ph
II-17	CH ₃	3-NO ₂ -fenilo	H	Ph
II-18	CH ₃	3-NHCOCH ₃ -fenilo	H	Ph
II-19	CH ₃	3-NH ₂ -fenilo	H	Ph
II-20	CH ₃	4-NO ₂ -fenilo	H	Ph
II-21	CH ₃	3-(CH ₂ CH ₂ CO ₂ H)-fenilo	H	Ph
II-22	CH ₃	3-(CH ₂ CO ₂ H)-fenilo	H	Ph
II-23	CH ₃	3-CH ₂ OH-fenilo	H	4-CH ₃ -Ph
II-24	CH ₃	fenilo	H	4-OMe-fenilo
II-25	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
II-26	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	4-Cl-Ph
II-27	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
II-28	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	4-F-Ph
II-29	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	4-OMe-fenilo

ES 2 307 667 T3

5	II-30	CH ₃	4-fluoro-fenilo	H	2,5-Cl ₂ -PhPh
	II-31	CH ₃	4-COCH ₃ -fenilo	H	2,4-F ₂ -Ph
	II-32	CH ₃	4-CONH ₂ -fenilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-33	CH ₃	4-SCH ₃ -fenilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
10	II-34	CH ₃	3-OCH ₃ -fenilo	H	3-Cl-Ph
	II-35	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-36	CH ₃	4-CH ₃ -fenilo	H	3-OBn-Ph
15	II-37	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-38	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-39	CH ₃	ciclohexilo	H	4-Cl-Ph
20	II-40	CH ₃	ciclohexilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
	II-41	CH ₃	ciclohexilo	H	4-F-Ph
	II-42	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
25	II-43	CH ₃	ciclohexilo	H	2,5-Cl ₂ -Ph
	II-44	CH ₃	ciclohexilo	H	2,4-F ₂ -Ph
30	II-45	CH ₃	ciclohexilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-46	CH ₃	ciclohexilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
	II-47	CH ₃	ciclohexilo	H	3-Cl-Ph
35	II-48	CH ₃	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-49	CH ₃	ciclohexilo	H	3-OBn-Ph
40	II-50	CH ₃	ciclohexilo	H	-CH ₂ Ph
	II-51	CH ₃	ciclohexilo	H	Ph
	II-52	CH ₃	fenilo	H	4-OMe-fenilo
45	II-53	H	4-metoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-54	H	3,4-dimetoxi-fenilo	H	4-Cl-Ph
	II-55	H	3,5-dimetoxi-fenilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
50	II-56	H	4-ciano-fenilo	H	4-F-Ph
	II-57	H	3-fluoro-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-58	H	4-fluoro-fenilo	H	2,5-Cl ₂ -PhPh
55	II-59	H	4-COCH ₃ -fenilo	H	2,4-F ₂ -Ph
	II-60	H	4-CONH ₂ -fenilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-61	H	4-SCH ₃ -fenilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
60	II-62	H	3-OCH ₃ -fenilo	H	3-Cl-Ph
	II-63	H	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-64	H	4-CH ₃ -fenilo	H	3-OBn-Ph
65	II-65	H	ciclohexilo	H	bencilo

ES 2 307 667 T3

5	II-66	H	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-67	H	ciclohexilo	H	fenilo
	II-68	H	ciclohexilo	H	3,4-Cl ₂ -Ph
	II-69	H	ciclohexilo	H	2,4-Cl ₂ -Ph
10	II-70	H	ciclohexilo	H	4-OMe-fenilo
	II-71	H	ciclohexilo	H	2,5-Cl ₂ -Ph
	II-72	H	ciclohexilo	H	2,4-F ₂ -Ph
15	II-73	H	ciclohexilo	H	4-NO ₂ -Ph
	II-74	H	ciclohexilo	H	3,5-Cl ₂ -Ph
	II-75	H	ciclohexilo	H	3-Cl-Ph
20	II-76	H	fenilo	H	4-OMe-fenilo
	II-78	CH ₃	4-metoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
25	II-79	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-80	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-81	CH ₃	4-ciano-fenilo	H	-CH ₂ Ph
30	II-82	CH ₃	3-fluoro-fenilo	H	-CH ₂ Ph
	II-83	CH ₃	3,4,5-trimetoxi-fenilo	H	-CH ₂ Ph
35	II-84	CH ₃	3-piridilo	H	Ph
	II-85	CH ₃	4-metoxi-pirid-3-ilo	H	Ph
	II-86	CH ₃	2-naftilo	H	Ph
40	II-88	CH ₃	6-metoxi-naftalen-2-ilo	H	Ph
	II-90	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	H	Ph
	II-91	CH ₃	4-metoxi-fenilo	CH ₃	Ph
45	II-92	CH ₃	3,4-dimetoxi-fenilo	CH ₃	Ph
	II-93	CH ₃	3,5-dimetoxi-fenilo	CH ₃	4-OMe-fenilo
	II-94	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	4-OMe-fenilo
50	II-95	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	4-Cl-fenilo
	II-96	CH ₃	ciclohexilo	CH ₃	Ph
	II-97	CH ₃	4-metoxi-fenilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
55	II-98	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
	II-99	CH ₃	2-metil-quinolein-6-ilo	CH ₃	-CH ₂ Ph
60	II-100	H	4-F-fenilo	CH ₃	Ph
	II-101	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	Ph
	II-102	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	Ph
65	II-103	H	ciclohexilo	CH ₃	2,6-difluoro-fenilo
	II-104	H	ciclohexilo	CH ₃	3,5-dicloro-fenilo

ES 2 307 667 T3

5	II-105	H	ciclohexilo	CH ₃	2,4-dicloro-fenilo
	II-106	H	ciclohexilo	CH ₃	Ph
	II-107	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	Ph
	II-108	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	Ph
10	II-109	H	fenilo	CH ₃	2,4-difluoro-fenilo
	II-110	CH ₃	3-Cl-fenilo	H	fenilo
15	II-111	H	fenilo	H	2,4-difluoro-fenilo
	II-112	H	ciclohexilo	H	fenilo
	II-113	H	3-Br-fenilo	CH ₃	fenilo
20	II-114	H	3-I-fenilo	CH ₃	fenilo
	II-115	H	2-cloropiridin-5-ilo	CH ₃	fenilo
	II-116	H	fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
25	II-117	H	4-F-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-118	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-119	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
30	II-120	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-121	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-122	H	2,6-difluorofenilo	CH ₃	fenilo
35	II-123	H	fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-124	H	4-F-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
40	II-125	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-126	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-127	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
45	II-128	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	3-Cl-fenilo
	II-129	H	naftalen-2-ilo	CH ₃	fenilo
	II-130	H	3,4-dimetoxifenilo	CH ₃	fenilo
50	II-131	H	fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-132	H	4-F-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-133	H	4-Cl-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
55	II-134	H	3-Cl-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-135	H	4-NO ₂ -fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
60	II-136	H	3-(benciloxi)-fenilo	CH ₃	6-CH ₃ -4-CF ₃ -piridin-2-ilo
	II-137	H	3-F-fenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
	II-138	H	3-cloro-4-metoxifenilo	CH ₃	piridin-2-ilo
65	II-139	H	naftalen-2-ilo	CH ₃	piridin-2-ilo

ES 2 307 667 T3

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, trastornos óseos destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, enfermedades neurodegenerativas, alergias, reperusión/isquemia en ictus, ataques al corazón, trastornos angiogénicos, hipoxia orgánica, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, agregación de plaquetas inducida por trombina, y estados asociados con citocinas proinflamatorias.
6. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es una enfermedad inflamatoria seleccionada entre pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, asma, alergias y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto.
7. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es una enfermedad autoinmune seleccionada entre glomerulonefritis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, tiroiditis crónica, enfermedad de Graves, gastritis autoinmune, diabetes, anemia hemolítica autoinmune, neutropenia autoinmune, trombocitopenia, dermatitis atópica, hepatitis activa crónica, *miastenia gravis*, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, psoriasis, y enfermedad del injerto contra el huésped.
8. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es un trastorno óseo destructivo seleccionado entre osteoartritis, osteoporosis y trastorno óseo relacionado con mieloma múltiple.
9. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es una enfermedad proliferativa seleccionada entre leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi y mieloma múltiple.
10. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, isquemia cerebral y enfermedad neurodegenerativa causada por lesión traumática, neurotoxicidad por glutamato o hipoxia.
11. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es seleccionada entre isquemia/reperusión en ictus o isquemia miocárdica, isquemia renal, ataques al corazón, hipoxia orgánica y agregación de plaquetas inducida por trombina.
12. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es un estado asociado con la activación de células T o con respuestas inmunes patológicas.
13. Un compuesto, para uso de acuerdo con la Reivindicación 5, en que dicha enfermedad es un trastorno angiogénico seleccionado entre tumores sólidos, neovascularización ocular y hemangioma infantil.
14. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.