

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 899 461**

51 Int. Cl.:

A61K 31/433	(2006.01)	A61P 25/24	(2006.01)
C07D 237/20	(2006.01)	A61P 25/28	(2006.01)
C07D 271/113	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
C07D 285/12	(2006.01)	A61P 37/00	(2006.01)
C07D 417/06	(2006.01)		
C07D 417/14	(2006.01)		
A61K 31/4245	(2006.01)		
A61K 31/501	(2006.01)		
A61P 25/16	(2006.01)		
A61P 25/18	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2013 PCT/US2013/070277**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14078645**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2013 E 13855039 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.07.2021 EP 2920168**

54 Título: **Inhibidores heterocíclicos de glutaminasa**

30 Prioridad:

16.11.2012 US 201261727195 P
17.05.2013 US 201361824434 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2022

73 Titular/es:

CALITHERA BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
343 Oyster Point Blvd., Suite 200
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

LI, JIM;
CHEN, LIJING;
GOYAL, BINDU;
LAIDIG, GUY;
STANTON, TIMOTHY FRIEND y
SJOGREN, ERIC BRIAN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 899 461 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 heterocíclicos de glutaminasa

Solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad para la Solicitud de Patente Provisional U.S. No. 61/727,195, presentada el 16 de noviembre de 2012, y la Solicitud de Patente Provisional U.S. No. 61/824,434, presentada el 17 de mayo de 2013.

Antecedentes

10 La glutamina apoya la supervivencia, el crecimiento y la proliferación celular a través de mecanismos metabólicos y no metabólicos. En las células que proliferan activamente, el metabolismo de la glutamina a lactato, también conocido como "glutaminólisis", es una fuente importante de energía en forma de NADPH. La primer etapa en la glutaminólisis es la desaminación de la glutamina para formar glutamato y amoníaco, que es catalizada por la enzima glutaminasa. Por lo tanto, la desaminación a través de la glutaminasa es un punto de control para el metabolismo de la glutamina.

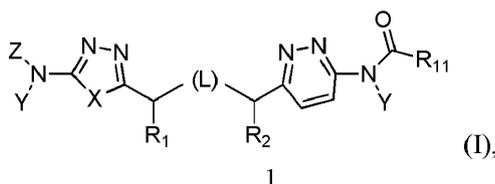
15 Desde la observación de Warburg de que las células tumorales de ascitis exhibieron altas tasas de consumo de glucosa y secreción de lactato en presencia de oxígeno (Warburg, 1956), los investigadores han estado explorando cómo las células cancerosas utilizan las rutas metabólicas para poder seguir proliferando activamente. Varios informes han demostrado cómo el metabolismo de la glutamina apoya la síntesis macromolecular necesaria para que las células se repliquen (Curthoys, 1995; DeBardinis, 2008).

20 Por lo tanto, se ha planteado la teoría que la glutaminasa es un objetivo terapéutico potencial para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por células que proliferan activamente, tal como el cáncer. La falta de inhibidores de glutaminasa adecuados ha hecho imposible la validación de este objetivo. Por lo tanto, la creación de inhibidores de glutaminasa que sean específicos y capaces de formularse para uso in vivo podría conducir a una nueva clase de agentes terapéuticos.

Los documentos US 6,451,828 B1, WO 2011/143460 A2, Shukla et al., J. Med. Chem. 2012, 55, 10551-10563 y WO 2013/078123 A1 describen compuestos divulgados para inhibir la glutaminasa.

25 Resumen de la invención

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I,



30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

L representa CH₂CH₂; X representa S o CH=CH, en donde cualquier átomo de hidrógeno de una unidad CH puede ser reemplazado por alquilo (C₁-C₁₀);

Y, independientemente para cada presencia, representa H o CH₂O(CO)R₇;

35 R₇, independientemente para cada presencia, representa H o alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), aminoalquilo (C₁-C₁₀), alquilamino(C₁-C₁₀) alquilo (C₁-C₁₀), heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), arilalquilo (C₁-C₁₀) o heterociclil-alcoxi (C₁-C₆) sustituidos o no sustituidos;

Z representa H o R₃(CO);

R₁ and R₂ representan cada uno H;

40 R₃, representa arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), heterocicloalquilo o heterociclilo sustituidos o no sustituidos; o C(R₈)(R₉)(R₁₀); en donde

R₈ representa arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀),

R₉ representa H, y

R₁₀ representa hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆) alquilo (C₁-C₁₀);

R₁₁ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional, o R₁₁ representa C(R₁₂)(R₁₃)(R₁₄), N(R₄)(R₁₄) u OR₁₄, en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇;

R₁₂ y R₁₃ representan cada uno independientemente H o alquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), amino, acilamino, aminoalquilo (C₁-C₁₀), acilamino-alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆)-carbonilo, alcoxi (C₁-C₆)-carbonilamino, alqueno, alcoxi (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₁₀), arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquil (C₃-C₈)-alquilo (C₁-C₁₀), heterociclilo, heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇, y en donde ni R₁₂ ni R₁₃ son H; y

R₁₄ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional;

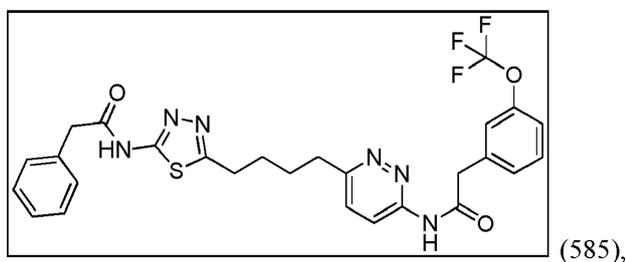
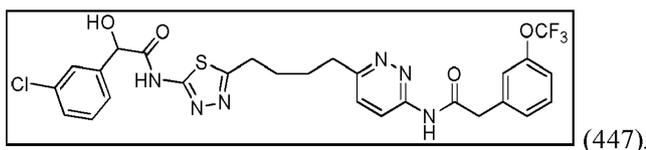
en donde cada heterociclilo es un anillo de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

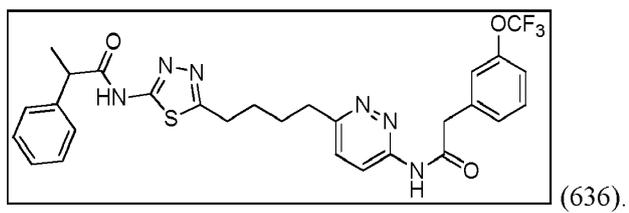
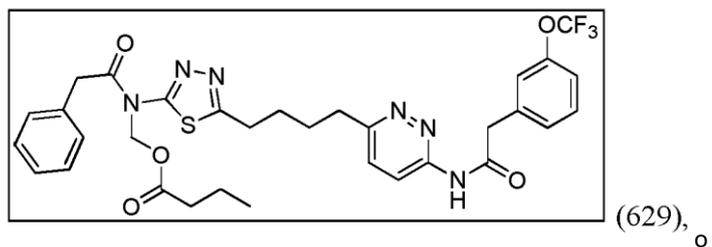
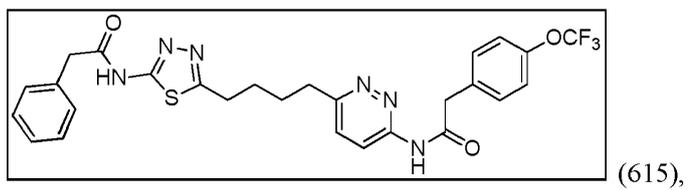
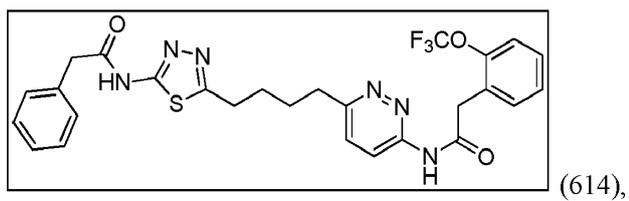
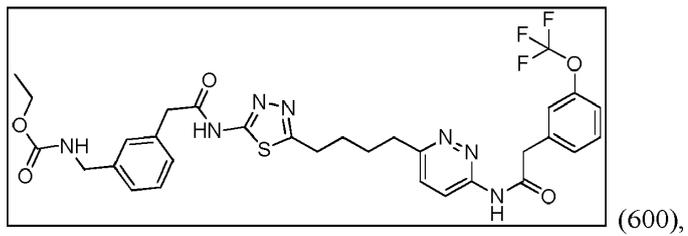
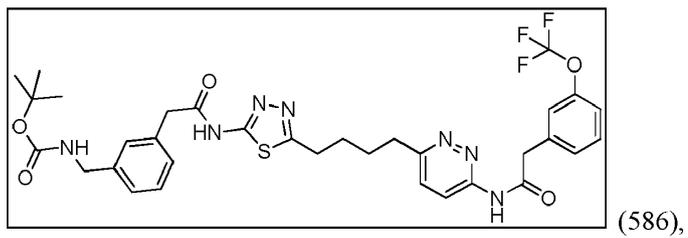
cada heteroarilo es un anillo aromático de 5-7 miembros que tiene al menos 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

cada arilo es un anillo de arilo de 6 miembros;

en donde, donde se indica, alquilo (C₁-C₁₀), hidroxialquilo (C₁-C₁₀), aminoalquilo (C₁-C₁₀), alquilamino(C₁-C₁₀) alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), alcoxi(C₁-C₆)alquilo(C₁-C₁₀), arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo(C₃-C₈), heterociclilo, heterociclilalquilo (C₁-C₁₀), heterociclilalcoxi (C₁-C₆), heteroarilo, o heteroaril alquilo (C₁-C₁₀) está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, carboxilo, alcoxycarbonilo (C₁-C₆), formilo, acilo, tioéster, tioacetato, tioformiato, alcoxi (C₁-C₆), fosforilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino, amido, amidina, imina, ciano, nitro, azido, sulfhidrilo, alquiltio (C₁-C₁₀), sulfato, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, sulfonilo, heterociclilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), arilo y heteroarilo;

además en donde el compuesto no es ninguno de los siguientes:





En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una preparación farmacéutica adecuada para uso en un paciente humano, que comprende una cantidad efectiva de cualquiera de un compuesto de fórmula I descrito en el presente documento, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas pueden usarse para tratar o prevenir una condición o enfermedad como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas tienen una actividad pirógena suficientemente baja como para ser adecuadas para uso intravenoso en un paciente humano.

También se describen en el presente documento métodos para tratar o prevenir el cáncer, enfermedades inmunológicas o neurológicas como se describe en el presente documento, que comprenden administrar un compuesto de la invención.

10 Descripción detallada de los dibujos

La Figura 1 muestra la concentración en plasma de los compuestos 585 y 295 en función del tiempo tras la dosificación oral de 50 mg/kg a ratones CD-1 hembra.

La Figura 2 muestra la concentración en plasma de los compuestos 447 y 318 en función del tiempo tras la dosificación oral de 50 mg/kg a ratones CD-1 hembra.

15 La Figura 3 muestra la concentración en plasma del compuesto 670 en función del tiempo tras la dosificación oral de 500, 250, 80 y 25 mg/kg a ratas Sprague Dawley hembra.

La Figura 4 muestra que la administración oral del compuesto 670 a ratones da como resultado la reducción del tamaño del tumor en un modelo de xenoinjerto de adenocarcinoma pulmonar H2122.

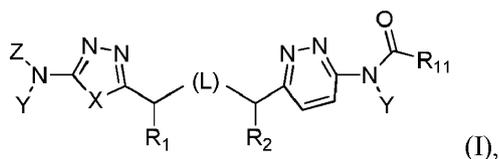
20 La Figura 5 muestra un estudio de combinación con el compuesto 670 y paclitaxel en un modelo de xenoinjerto de cáncer de mama triple negativo JIMT-1.

La Figura 6 muestra que la administración oral del compuesto 670 a ratones da como resultado la reducción del tamaño del tumor en un modelo de xenoinjerto de mieloma múltiple RPMI-8226.

La Figura 7 muestra que el compuesto 670 ejerce un efecto sinérgico con la pomalidomida o dexametasona para producir un efecto antitumoral en células de mieloma múltiple.

25 Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I,



30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

L representa CH₂CH₂;

X representa S o CH=CH, en donde cualquier átomo de hidrógeno de una unidad CH puede ser reemplazado por alquilo (C₁-C₁₀);

Y, independientemente para cada presencia, representa H o CH₂O(CO)R₇;

35 R₇, independientemente para cada presencia, representa H o alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), aminoalquilo (C₁-C₁₀), alquilamino(C₁-C₁₀) alquilo (C₁-C₁₀), heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), arilalquilo (C₁-C₁₀), o heterociclil-alcoxi (C₁-C₆) sustituidos o no sustituidos;

Z representa H o R₃(CO);

R₁ and R₂ representan cada uno H;

40 R₃ representa arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), heterocicloalquilo o heterociclilo sustituidos o no sustituidos; o

C(R₈)(R₉)(R₁₀); en donde

R₈ representa arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀),

R₉ representa H, y

R₁₀ representa hidroxil, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆) alquilo (C₁-C₁₀);

5 R₁₁ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional, o R₁₁ representa C(R₁₂)(R₁₃)(R₁₄), N(R₄)(R₁₄) u OR₁₄, en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇;

10 R₁₂ y R₁₃ representan cada uno independientemente H o alquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), amino, acilamino, aminoalquilo (C₁-C₁₀), acilamino-alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆)-carbonilo, alcoxi (C₁-C₆)-carbonilamino, alqueno, alcoxi (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₁₀), arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquil (C₃-C₈)-alquilo (C₁-C₁₀), heterociclilo, heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇, y en donde ni R₁₂ ni R₁₃ son H; y

15 R₁₄ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional;

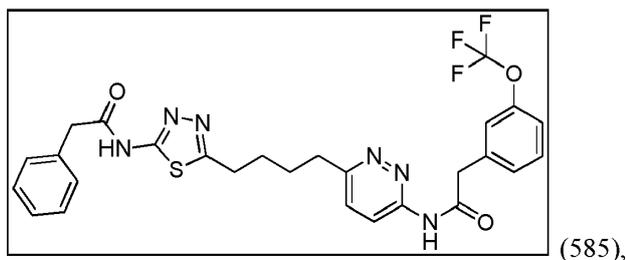
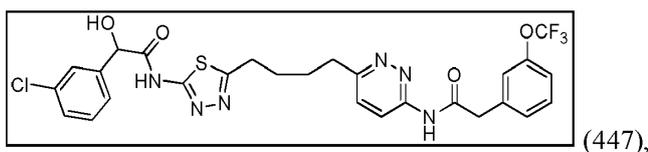
en donde cada heterociclilo es un anillo de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

20 cada heteroarilo es un anillo aromático de 5-7 miembros que tiene al menos 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

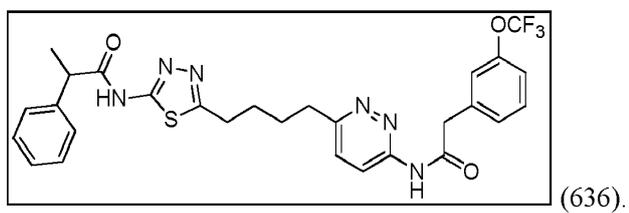
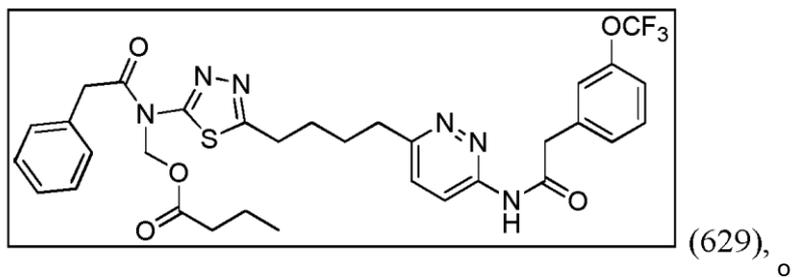
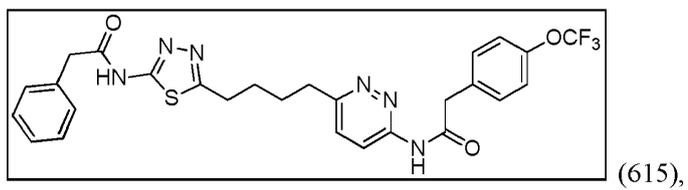
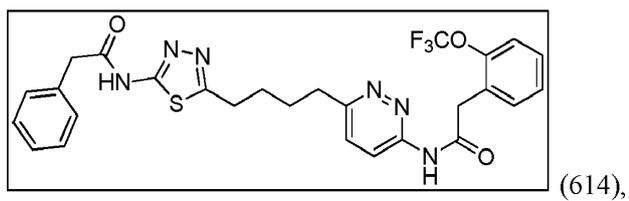
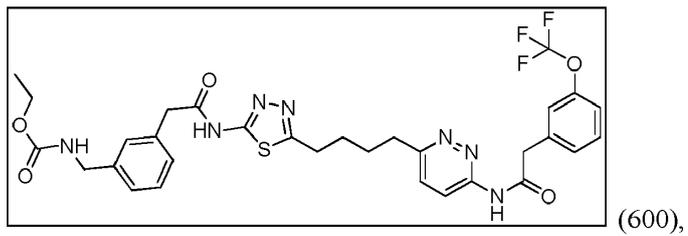
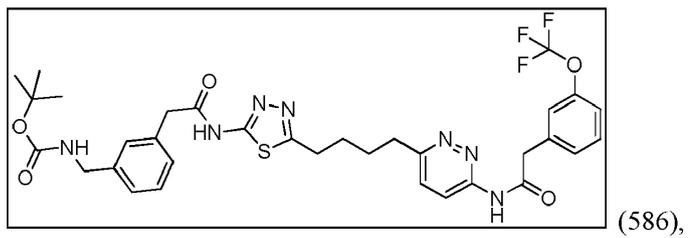
cada arilo es un anillo de arilo de 6 miembros;

25 en donde, donde se indica, alquilo (C₁-C₁₀), hidroxialquilo (C₁-C₁₀), aminoalquilo (C₁-C₁₀), alquilamino (C₁-C₁₀)-alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), heterociclilo, heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), heterociclil-alcoxi (C₁-C₆), heteroarilo, o heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀) está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, carboxilo, alcoxycarbonilo (C₁-C₆), formilo, acilo, tioéster, tioacetato, tioformiato, alcoxi (C₁-C₆), fosforilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino, amido, amidina, imina, ciano, nitro, azido, sulfhidrilo, alquiltio (C₁-C₁₀), sulfato, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, sulfonilo, heterociclilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), arilo y heteroarilo;

30 además en donde el compuesto no es ninguno de los siguientes:

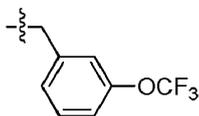


35



En ciertas realizaciones, R_{11} representa aril-alquilo (C_1-C_{10}), tal como bencilo, en donde el grupo arilo está sustituido con $-OCF_3$, tal como sustituido en meta con $-OCF_3$. En ciertas realizaciones, el anillo de arilo no está sustituido de forma adicional. En ciertas realizaciones, R_{11} representa trifluorometoxibencilo, tal como

5



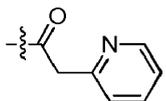
En ciertas realizaciones, Y representa H.

En ciertas realizaciones, X representa S.

10 En ciertas realizaciones, Z representa $R_3(CO)$. En ciertas realizaciones, en las que Z es $R_3(CO)$, R_3 y R_{11} no son idénticas (por ejemplo, el compuesto de fórmula I no es simétrico).

En ciertas realizaciones, Z representa $R_3(CO)$ y R_3 representa aril-alquilo (C_1-C_{10}), heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_8) o heterocicloalquilo. En ciertas realizaciones, Z representa $R_3(CO)$ y R_3 representa heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}), tal como piridilalquilo (por ejemplo, piridilmetilo). En ciertas realizaciones, Z representa

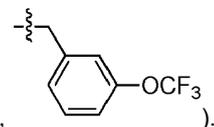
15



20 En ciertas realizaciones, Z representa $R_3(CO)$ y R_3 representa $C(R_8)(R_9)(R_{10})$, en donde R_8 representa arilo, aril-alquilo (C_1-C_{10}), heteroarilo o heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}), tal como arilo, aril-alquilo (C_1-C_{10}) o heteroarilo, R_9 representa H, y R_{10} representa hidroxilo, hidroxialquilo (C_1-C_{10}), alcoxi (C_1-C_6) o alcoxi (C_1-C_6)-alquilo (C_1-C_{10}), tal como hidroxilo, hidroxialquilo (C_1-C_{10}) o alcoxi (C_1-C_6).

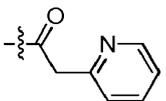
25 En ciertas realizaciones, L representa CH_2CH_2 , Y representa H, X representa S, Z representa $R_3(CO)$, R_1 y R_2 representan cada uno H, R_3 representa aril-alquilo (C_1-C_{10}), heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_8) o heterocicloalquilo, tal como heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}) (por ejemplo, piridilalquilo), y R_{11} representa aril-alquilo (C_1-C_{10}), tal como trifluorometoxibencilo (por ejemplo

25



En ciertas realizaciones, Z representa $R_3(CO)$ y R_3 representa piridilmetilo, tal como en donde Z representa

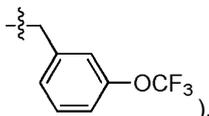
30



35 En ciertas realizaciones, L representa CH_2CH_2 , Y representa H, X representa S, Z representa $R_3(CO)$, R_1 y R_2 representan cada uno H, y cada R_3 representa $C(R_8)(R_9)(R_{10})$, en donde R_8 representa arilo, aril-alquilo (C_1-C_{10}), heteroarilo o heteroaril-alquilo (C_1-C_{10}), tal como arilo, aril-alquilo (C_1-C_{10}) o heteroarilo, R_9 representa H, y

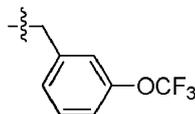
R₁₀ representa hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₁₀), tal como hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₁₀) o alcoxi (C₁-C₆), y R₁₁ representa aril-alquilo (C₁-C₁₀), tal como trifluorometoxibencilo (por ejemplo,

5

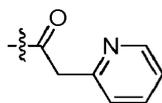


En ciertas realizaciones, L representa CH₂CH₂, Y representa H, X representa S o CH=CH, tal como S, Z representa R₃(CO), R₁ y R₂ representan cada uno H, y R₃ representa aril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈) o heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, tal como heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀) (por ejemplo, piridilalquilo), y R₁₁ representa aril-alquilo (C₁-C₁₀), tal como trifluorometoxibencilo (por ejemplo,

10

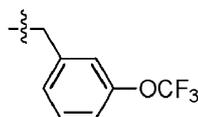


15). En ciertas realizaciones de este tipo, Z representa R₃(CO) y R₃ representa piridilmetilo, tal como en donde Z representa



20 En ciertas realizaciones, L representa CH₂CH₂, Y representa H, X representa S, Z representa R₃(CO), R₁ y R₂ representan cada uno H, R₃ representa C(R₈)(R₉)(R₁₀), en donde R₈ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀) o heteroarilo, R₉ representa H, y R₁₀ representa hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₁₀) o alcoxi (C₁-C₆), y R₁₁ representa aril-alquilo (C₁-C₁₀), tal como trifluorometoxibencilo (por ejemplo

25



). En ciertas realizaciones de este tipo, R₈ representa arilo y R₁₀ representa hidroxialquilo (C₁-C₁₀).

En ciertas realizaciones, el compuesto se selecciona del compuesto 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 666, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 689, 692, 693, 696, 697, 700, 703, 704, 705, 707, 708, 709, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 725, 729, o 730.

30 Aquí se describen profármacos de los compuestos de fórmula I, por ejemplo, en donde un hidroxilo en el compuesto original se presenta como un éster o un carbonato, o el ácido carboxílico presente en el compuesto original se presenta como un éster. Convenientemente, el profármaco se metaboliza al compuesto original activo in vivo (por ejemplo, el éster se hidroliza al correspondiente hidroxilo o ácido carboxílico).

35 En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden ser racémicos. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden enriquecerse en un enantiómero. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede tener más del 30% ee, 40% ee, 50% ee, 60% ee, 70% ee, 80% ee, 90% ee, o incluso 95% o más ee. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden tener más de un estereocentro. En ciertas realizaciones de este

tipo, los compuestos de la invención pueden enriquecerse en uno o más diastereómeros. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede tener más de 30% de, 40% de, 50% de, 60% de, 70% de, 80% de, 90% de, o incluso 95% o más de.

5 Aquí se describen métodos de tratamiento con un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, la preparación terapéutica puede enriquecerse para proporcionar predominantemente un enantiómero de un compuesto (por ejemplo, de fórmula I). Una mezcla enriquecida enantioméricamente puede comprender, por ejemplo, al menos 60 por ciento en moles de un enantiómero, o más preferiblemente al menos 75, 90, 95, o incluso 99 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, el compuesto enriquecido en un enantiómero está sustancialmente libre del otro enantiómero, en donde sustancialmente libre significa que la sustancia en cuestión
10 constituye menos del 10%, o menos del 5%, o menos del 4%, o menos del 3 %, o menos del 2%, o menos del 1% en comparación con la cantidad del otro enantiómero, por ejemplo, en la composición o mezcla de compuestos. Por ejemplo, si una composición o mezcla de compuestos contiene 98 gramos de un primer enantiómero y 2 gramos de un segundo enantiómero, se diría que contiene 98 por ciento en moles del primer enantiómero y solo el 2% del segundo enantiómero.

15 En ciertas realizaciones, la preparación terapéutica puede enriquecerse para proporcionar predominantemente un diastereómero de un compuesto (por ejemplo, de fórmula I). Una mezcla enriquecida diastereoméricamente puede comprender, por ejemplo, al menos 60 por ciento en moles de un diastereómero, o más preferiblemente al menos 75, 90, 95, o incluso 99 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una preparación farmacéutica adecuada para uso en un paciente humano, que comprende un compuesto de fórmula I, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas pueden usarse
20 para tratar o prevenir una condición o enfermedad como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas tienen una actividad pirógena suficientemente baja para ser adecuadas para uso en un paciente humano.

25 Los compuestos de cualquiera de las estructuras anteriores pueden usarse en la fabricación de medicamentos para el tratamiento de cualquier enfermedad o condición descrita en el presente documento.

Usos de inhibidores enzimáticos

La glutamina juega un papel importante como portador de nitrógeno, carbono y energía. Se utiliza para la síntesis hepática de urea, para la amoniagénesis renal, para la gluconeogénesis y como combustible respiratorio para muchas células. La conversión de glutamina en glutamato es iniciada por la enzima mitocondrial, glutaminasa ("GLS"). Hay
30 dos formas principales de la enzima, tipo K y tipo L, que se distinguen por sus valores de Km para glutamina y respuesta al glutamato, en donde el valor de Km, o constante de Michaelis, es la concentración de sustrato requerida para alcanzar la mitad de velocidad máxima. El tipo L, también conocido como "tipo de hígado" o GLS2, tiene un alto Km para glutamina y es resistente al glutamato. El tipo K, también conocido como "tipo de riñón o GLS1", tiene un Km bajo para glutamina y es inhibido por el glutamato. Recientemente se ha identificado una forma de empalme alternativa de GLS1, denominada glutaminasa C o "GAC" y tiene características de actividad similares de GLS1. En ciertas
35 realizaciones, los compuestos pueden inhibir selectivamente GLS1, GLS2 y GAC. En una realización preferida, los compuestos inhiben selectivamente GLS1 y GAC.

Además de servir como los bloques de construcción básicos de la síntesis de proteínas, se ha demostrado que los aminoácidos contribuyen a muchos procesos críticos para el crecimiento y la división de las células, y esto es particularmente cierto para las células cancerosas. Casi todas las definiciones de cáncer incluyen referencias a la proliferación desregulada. Numerosos estudios sobre el metabolismo de la glutamina en el cáncer indican que muchos tumores son ávidos consumidores de glutamina (Souba, Ann. Surg., 1993; Collins et al., J. Cell. Physiol., 1998; Medina, J. Nutr., 2001; Shanware et al., J. Mol. Med., 2011). Una realización de la invención son los compuestos descritos en el presente documento para uso en el tratamiento del cáncer.

45 En ciertas realizaciones, el cáncer puede ser una o una variante de leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), carcinoma adrenocortical, cánceres relacionados con el SIDA (sarcoma de Kaposi y linfoma), cáncer anal, cáncer de apéndice, tumor teratoide atípico/rabdoide, carcinoma de células basales, cáncer de conducto biliar (incluido extrahepático), cáncer de vejiga, cáncer de hueso (incluido osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor cerebral (tal como astrocitomas, tumores de cerebro y médula espinal, glioma del tallo cerebral, tumor
50 teratoideo/rabdoide atípico del sistema nervioso central, tumores embrionarios del sistema nervioso central, craneofaringioma, endimoblastoma, endimoma, meduloblastoma meduloepitelioma, tumores parenquimatosos pineales de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma), cáncer de mama, tumores bronquiales, linfoma de Burkitt, carcinoma de células basales, cáncer de las vías biliares (incluido el extrahepático), cáncer de vejiga, cáncer de hueso (incluyendo osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor carcinoide, carcinoma de primario desconocido, sistema nervioso central (tal como tumor teratoideo/rabdoide atípico, tumores embrionarios y linfoma), cáncer cervical, cánceres infantiles, cordoma, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma cutáneo de células T (micosis fungoide y síndrome de Sézary), conducto, bilis (extrahepático), carcinoma ductal in situ (DCIS), tumores embrionarios (sistema nervioso central), cáncer de
60 endometrio, endimomablastoma, endimoma, cáncer de esófago, esteseuroblastoma, familia de tumores de

sarcoma de Ewing, tumor extracraneal de células germinales, tumor de células germinales extragonadal, cáncer de conducto biliar extrahepático, cáncer de ojo (como melanoma intraocular, retinoblastoma), histiocitoma fibroso de hueso (incluyendo malignos y osteosarcoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumores del estroma gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales (extracraneal, extragonadal, ovario), tumor trofoblástico gestacional, glioma, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de corazón, cáncer hepatocelular (hígado), histiocitosis, células de Langerhans, linfoma de Hodgkin, cáncer de hipofaringe, melanoma intraocular, tumores de células de islotes (endocrino, páncreas), sarcoma de Kaposi, riñón (incluida la célula renal), histiocitosis de células de Langerhans, cáncer de laringe, leucemia (incluyendo linfoblástica aguda (ALL), mieloides aguda (AML), linfocítica crónica (CLL), mielógena crónica (CML), células pilosas), cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de hígado (primario), carcinoma in situ lobular (LCIS), cáncer de pulmón (células no pequeñas y células pequeñas), linfoma (relacionado con el SIDA, Burkitt, células T cutáneas (micosis fungoide y síndrome de Sézary), Hodgkin, no Hodgkin, sistema nervioso central primario (SNC), macroglobulinemia, Waldenström, cáncer de mama masculino, histiocitoma fibroso maligno de hueso y osteosarcoma, meduloblastoma, meduloepitelioma, melanoma (incluyendo intraocular (ojo)), carcinoma de células de Merkel, mesotelioma (maligno), cáncer de cuello escamoso metastásico con primario oculto, carcinoma del tracto de la línea media que involucra gen NUT, cáncer de boca, síndromes de neoplasia endocrina múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena, crónica (CML), leucemia mieloides, aguda (AML), mieloma y mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos (crónica), cáncer de cavidad nasal y seno paranasal, cáncer de nasofaringe, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin (ambos subtipos, de linfocitos B y de linfocitos T), cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer oral, cáncer de cavidad oral, labio y cáncer de orofaringe, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno de hueso, cáncer de ovario (tal como epitelial, tumor de células germinales y tumor de bajo potencial maligno), cáncer de páncreas (incluidos los tumores de células de los islotes), papilomatosis, paraganglioma, cáncer de seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, tumores parenquimatosos pineales de diferenciación intermedia, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, embarazo y cáncer de mama, linfoma primario del sistema nervioso central (CNS), cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales (riñón) (RCC), pelvis renal y uréter, cáncer de células de transición, retinoblastoma, Rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma (como la familia de tumores de sarcoma de Ewing, Kaposi, tejido blando, uterino), síndrome de Sézary, cáncer de piel (tal como melanoma, carcinoma de células de Merkel, no melanoma), cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejido suave, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células escamosas de la cabeza y el cuello (HNSCC), cáncer de cuello escamoso con cáncer oculto primario, metastásico, de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, linfoma de células T (cutáneo, micosis fungoide y síndrome de Sézary), cáncer de testículo, cáncer de garganta, timoma y timo carcinoma, cáncer de tiroides, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y el uréter, cáncer de mama triple negativo (TNBC), tumor trofoblástico (gestacional), primario desconocido, cánceres inusuales de la infancia, uréter y pelvis renal, cáncer de células transicionales, cáncer de uretra, cáncer de útero, endometrio, sarcoma uterino, macroglobulinemia de Waldenström y tumor de Wilms. Las Figuras 4, 5 y 6 muestran que un compuesto de la invención reduce los tamaños de los tumores en modelos de xenoinjerto de adenocarcinoma pulmonar, cáncer de mama y mieloma múltiple, lo que demuestra que los compuestos descritos en el presente documento se pueden utilizar para el tratamiento de varios tipos de cáncer.

En algunos casos, las mutaciones oncogénicas promueven el metabolismo de la glutamina. Las células que expresan K-Ras oncogénico exhiben una utilización incrementada de glutamina (Weinberg et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010; Gaglio et al., Mol. Syst. Biol., 2011). En ciertas realizaciones, las células cancerosas tienen un gen K-Ras mutado. En ciertas realizaciones, el cáncer está asociado con tejido de la vejiga, médula ósea, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, ovario, páncreas, próstata, piel o tiroides. Se sabe que el gen c-Myc está alterado en numerosos tipos de cáncer (Zeller et al., Genome biology, 2003). El aumento de la expresión de la proteína Myc se ha correlacionado con el aumento de la expresión de glutaminasa, lo que lleva a una regulación positiva del metabolismo de la glutamina (Dang et al., Clin. Cancer Res., 2009; Gao et al., Nature, 2009). En ciertas realizaciones, las células cancerosas tienen un gen c-Myc oncogénico o una expresión elevada de proteína Myc. En algunas realizaciones, el cáncer está asociado con tejido de la vejiga, hueso, intestino, mama, sistema nervioso central (como el cerebro), colon, sistema gástrico (tal como el estómago y el intestino), hígado, pulmón, ovario, próstata, músculo, y piel.

Si bien muchas células cancerosas dependen de la glutamina exógena para sobrevivir, el grado de dependencia de la glutamina entre los subtipos de células tumorales puede hacer que una población de células sea más susceptible a la reducción de la glutamina. Como ejemplo, el análisis de la expresión génica de los cánceres de mama ha identificado cinco subtipos intrínsecos (luminal A, luminal B, basal, HER2+ y de tipo normal) (Sorlie et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2001). Aunque la privación de glutamina tiene un impacto en el crecimiento y la viabilidad celular, las células de tipo basal parecen ser más sensibles a la reducción de la glutamina exógena (Kung et al., PLoS Genetics, 2011). Esto respalda el concepto de que la glutamina es una fuente de energía muy importante en las líneas celulares de cáncer de mama de tipo basal, y sugiere que la inhibición de la enzima glutaminasa sería beneficiosa en el tratamiento de los cánceres de mama compuestos por células de tipo basal. El cáncer de mama triple negativo (TNBC) se caracteriza por la falta de expresión del receptor de estrógenos, receptor de progesterona y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2. Tiene una tasa más alta de recaída después de la quimioterapia y un pronóstico más pobre que con los otros subtipos de cáncer de mama (Dent et al., Clin Cancer res, 2007). De manera interesante, parece haber similitudes significativas en el perfil metabólico entre las células TNBC y las células de cáncer de mama de tipo basal

(datos no publicados). La Figura 5 muestra que un compuesto tal como se describe en el presente documento reduce un tumor de xenoinjerto TNBC. El compuesto combinado con paclitaxel reduce adicionalmente el tamaño del tumor. Por lo tanto, la invención contempla el uso de los compuestos descritos aquí para el tratamiento de TNBC y cánceres de mama de tipo basal.

5 La caquexia, la pérdida masiva de masa muscular, a menudo se asocia con un estado de bajo rendimiento y una alta tasa de mortalidad de los pacientes con cáncer. Una teoría detrás de este proceso es que los tumores requieren más glutamina de la que normalmente suministra la dieta, por lo que el músculo, una fuente importante de glutamina, comienza a descomponerse para suministrar suficiente nutrientes al tumor. Por lo tanto, la inhibición de la glutaminasa puede reducir la necesidad de descomponer los músculos. Aquí se describe el uso de los presentes compuestos para
10 prevenir, inhibir o reducir la caquexia.

El neurotransmisor más común es el glutamato, derivado de la conversión enzimática de la glutamina a través de la glutaminasa. Se ha demostrado que los altos niveles de glutamato son neurotóxicos. Después de una lesión traumática en las células neuronales, se produce un aumento en la liberación de neurotransmisores, particularmente glutamato. En consecuencia, se ha planteado la hipótesis de la inhibición de la glutaminasa como un medio de tratamiento
15 después de un ataque isquémico, tal como un accidente cerebrovascular (Newcomb, PCT WO 99/09825, Kostandy, Neurol. Sci., 2011). La enfermedad de Huntington es una condición neurológica progresiva y mortal. En modelos genéticos de ratones de la enfermedad de Huntington, se observó que la manifestación temprana de la enfermedad se correlacionaba con la liberación desregulada de glutamato (Raymond et al., Neuroscience, 2011). En la demencia asociada al VIH, los macrófagos infectados por el VIH exhiben una actividad de glutaminasa sobrerregulada por
20 aumento y una mayor liberación de glutamato, lo que conduce a un daño neuronal (Huang et al., J. Neurosci., 2011). De manera similar, en otra enfermedad neurológica, la microglia activada en el Síndrome de Rett libera glutamato causando daño neuronal. La liberación del exceso de glutamato se ha asociado con la regulación positiva de la glutaminasa (Maezawa et al., J. Neurosci, 2010). En ratones criados para reducir los niveles de glutaminasa, la sensibilidad a los fármacos estimulantes psicóticos, tal como las anfetaminas, se redujo drásticamente, lo que sugiere
25 que la inhibición de la glutaminasa puede ser beneficiosa en el tratamiento de la esquizofrenia (Gaisler-Salomon et al., Neuropsychopharmacology, 2009). El trastorno bipolar es una enfermedad devastadora que se caracteriza por episodios recurrentes de manía y depresión. Esta enfermedad es tratada con estabilizadores del estado de ánimo tal como el litio y el valproato; sin embargo, el uso crónico de estos medicamentos parece aumentar la abundancia de receptores de glutamato (Nanavati et al., J. Neurochem., 2011), lo que puede conducir a una disminución en la
30 efectividad del medicamento con el tiempo. Por lo tanto, un tratamiento alternativo puede ser reducir la cantidad de glutamato inhibiendo la glutaminasa. Esto puede o no estar en conjunción con los estabilizadores del estado de ánimo. La memantina, un antagonista parcial del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDAR), es un agente terapéutico aprobado en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Actualmente, se están llevando a cabo investigaciones sobre la memantina como un medio para tratar la demencia vascular y la enfermedad de Parkinson (Oliverares et al.,
35 Curr. Alzheimer Res., 2011). Dado que también se ha demostrado que la memantina bloquea parcialmente el receptor de glutamato NMDA, no es irracional especular que la disminución de los niveles de glutamato al inhibir la glutaminasa también podría tratar la enfermedad de Alzheimer, la demencia vascular y la enfermedad de Parkinson. La enfermedad de Alzheimer, el trastorno bipolar, la demencia asociada al VIH, la enfermedad de Huntington, el traumatismo isquémico, la enfermedad de Parkinson, la esquizofrenia, el accidente cerebrovascular, el traumatismo traumático y la
40 demencia vascular son solo algunas de las enfermedades neurológicas que se han correlacionado con el aumento de los niveles de glutamato. Por lo tanto, inhibir la glutaminasa con un compuesto descrito aquí puede reducir o prevenir enfermedades neurológicas. Por lo tanto, en una realización, los compuestos de la invención son para uso en el tratamiento o prevención de enfermedades neurológicas.

La activación de los linfocitos T induce el crecimiento celular, la proliferación y la producción de citoquinas, lo que genera demandas energéticas y biosintéticas en la célula. La glutamina sirve como un donante del grupo amina para
45 la síntesis de nucleótidos, y el glutamato, el primer componente en el metabolismo de la glutamina, juega un papel directo en la síntesis de aminoácidos y glutatión, además de ser capaz de ingresar al ciclo de Krebs para la producción de energía (Carr et al., J. Immunol., 2010). La proliferación de células T inducida por mitógenos y la producción de citoquinas requieren altos niveles de metabolismo de la glutamina, por lo que inhibir la glutaminasa puede servir como
50 un medio de modulación inmune. En la esclerosis múltiple, una enfermedad autoinmune inflamatoria, la microglia activada exhibe glutaminasa sobrerregulada y libera niveles elevados de glutamato extracelular. Los niveles de glutamina se reducen por sepsis, lesiones, quemaduras, cirugía y ejercicio de resistencia (Calder et al., Amino Acids, 1999). Estas situaciones ponen al individuo en riesgo de inmunosupresión. De hecho, en general, la expresión génica de glutaminasa y la actividad enzimática aumentan durante la actividad de las células T. Los pacientes que recibieron glutamina después del trasplante de médula ósea dieron como resultado un menor nivel de infección y una reducción
55 de la enfermedad de injerto contra huésped (Crowther, Proc. Nutr. Soc., 2009). La proliferación y la activación de las células T están involucradas en muchas enfermedades inmunológicas, tal como la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad de Crohn, la sepsis, la psoriasis, la artritis (incluida la artritis reumatoide), la esclerosis múltiple, la enfermedad del injerto contra el huésped, las infecciones, el lupus y la diabetes. En una realización de la invención,
60 los compuestos descritos en el presente documento son para uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades inmunológicas.

La encefalopatía hepática (HE) representa una serie de disfunciones neurológicas y psiquiátricas transitorias y reversibles en pacientes con enfermedad hepática o derivación portosistémica. La HE no es una entidad clínica única

y puede reflejar encefalopatía metabólica reversible, atrofia cerebral, edema cerebral o una combinación de estos factores; Sin embargo, la hipótesis actual es que la acumulación de amoníaco, derivado principalmente del intestino, desempeña un papel clave en la fisiopatología (Khunger et al., Clin Liver Dis, 2012). La desaminación de la glutamina en el intestino delgado, la síntesis renal y muscular contribuyen a la producción de amoníaco. La depuración hepática alterada causada por la depuración hepatocelular o la derivación portosistémica provoca una mayor acumulación de amoníaco. La toxicidad del amoníaco afecta a los astrocitos en el cerebro a través de la glutamina sintetasa, que metaboliza el amoníaco para producir glutamina aumentada. La glutamina, a su vez, atrae agua hacia los astrocitos, lo que provoca hinchazón y disfunción oxidativa de las mitocondrias. Se cree que el edema cerebral resultante contribuye a la disfunción neurológica observada en HE (Kavitt et al., Clin Gastroenterol Hepatol, 2008). Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar o prevenir la HE.

Se ha demostrado que las neuronas sensoriales primarias en el ganglio de la raíz dorsal elevan su actividad enzimática de glutaminasa después de la inflamación (Miller et al., Pain Research and Treatment, 2012). Se cree que el aumento de la producción de glutamato resultante contribuye a la sensibilización tanto central como periférica, identificada como dolor. Aquí se describe el uso de los presentes compuestos en el presente documento para el tratamiento o la disminución del dolor. En ciertas realizaciones, el dolor puede ser dolor neuropático, dolor inducido por quimioterapia o dolor inflamatorio.

Los niveles altos de glucosa en sangre, los niveles altos de insulina y la resistencia a la insulina son factores de riesgo para desarrollar diabetes mellitus. Del mismo modo, la presión arterial alta es un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares. En un informe reciente de un gran estudio de cohorte humano, estos cuatro factores de riesgo se correlacionaron inversamente con las proporciones de glutamina a glutamato en el torrente sanguíneo (Chen et al, Circulation, 2012). Además, las relaciones plasmáticas de glutamina a glutamato se correlacionaron inversamente con la posible incidencia de diabetes mellitus durante 12 años (Cheng et al, Circulation, 2012). Los experimentos con modelos animales fueron consistentes con estos hallazgos. Los ratones alimentados con dietas ricas en glutamina exhibieron niveles más bajos de glucosa en sangre en una prueba de tolerancia a la glucosa después de 6 horas de ayuno, y la inyección intraperitoneal de glutamina en ratones disminuyó rápidamente su presión arterial (Cheng et al, Circulation, 2012). Por lo tanto, es plausible que los inhibidores de glutaminasa, que causan un aumento en los niveles de glutamina y disminuyan los niveles de glutamato, disminuyan la incidencia de diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular. En particular, el hígado y el intestino delgado son sitios principales de utilización de glutamina en animales diabéticos, y la actividad glutaminasa es más alta de lo normal en estos órganos en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (Wafford et al, Biochem J, 1984; Mithieux et al, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004). Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar la diabetes. Además, los presentes compuestos pueden usarse para reducir la presión arterial alta.

Los métodos para tratar o prevenir el cáncer, las enfermedades inmunológicas y neurológicas que se describen en el presente documento pueden comprender administrar un compuesto de la invención conjuntamente con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que se pueden administrar conjuntamente con compuestos de la invención incluyen: aminoglutetimida, amsacrina, anastrozol, asparaginasa, BCG, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfán, campotecina, capecitabina, carboplatino, carfilzomib, carmustina, clorambucilo, cloroquina, cisplatino, cladribina, clodronato, colchicina, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, demetoxiviridina, dexametasona, dicloroacetato, dienestrol, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, estradiol, estramustina, etopósido, everolimus, exemestano, filgrastim, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximesterona, flutamida, gemcitabina, genisteína, goserelina, hidroxurea, idarubicina, ifosfamida, imatinib, interferón, irinotecan, ironotecan, lenalidomida, letrozol, leucovorina, leuprolida, levamisol, lomustina, lonidamina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalan, mercaptopurina, mesna, metformina, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, nocodazol, octreotida, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pentostatina, perifosina, plicamicina, pomalidomida, porfímero, procarbazona, raltitrexed, rituximab, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, suramina, tamoxifeno, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, dicloruro de titanoceno, topotecan, trastuzumab, tretinoína, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina.

Se han desarrollado muchas terapias combinadas para el tratamiento del cáncer. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden ser administrados conjuntamente con una terapia de combinación. En la Tabla 1 se incluyen ejemplos de terapias combinadas con las cuales los compuestos de la invención pueden ser administrados conjuntamente.

Tabla 1: terapias combinatorias ejemplares para el tratamiento del cáncer.

Nombre	Agentes terapéuticos
ABV	Doxorubicina, Bleomicina, Vinblastina
ABVD	Doxorubicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
AC(Mama)	Doxorubicina, Ciclofosfamida
AC(Sarcoma)	Doxorubicina, Cisplatino
AC(Neuromblastoma)	Ciclofosfamida, Doxorubicina
ACE	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Etopósido
ACe	Ciclofosfamida, Doxorubicina
AD	Doxorubicina, Dacarbazina
AP	Doxorubicina, Cisplatino
ARAC-DNR	Citarabina, Daunorubicina
B-CAVe	Bleomicina, Lomustina, Doxorubicina, Vinblastina
BCVPP	Carmustina, Ciclofosfamida, Vinblastina, Procarbazina, Prednisona
BEACOPP	Bleomicina, Etopósido, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Procarbazina, Prednisona, Filgrastim
BEP	Bleomicina, Etopósido, Cisplatino
BIP	Bleomicina, Cisplatino, Ifosfamida, Mesna
BOMP	Bleomicina, Vincristina, Cisplatino, Mitomicina
CA	Citarabina, Asparaginasa
CABO	Cisplatino, Metotrexato, Bleomicina, Vincristina
CAF	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Fluorouracilo
CAL-G	Ciclofosfamida, Daunorubicina, Vincristina, Prednisona, Asparaginasa
CAMP	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Metotrexato, Procarbazina
CAP	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Cisplatino
CaT	Carboplatino, Paclitaxel
CAV	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristina
CAVE ADD	CAV and Etopósido
CA-VP16	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Etopósido
CC	Ciclofosfamida, Carboplatino
CDDP/VP-16	Cisplatino, Etopósido

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
CEF	Ciclofosfamida, Epirubicina, Fluorouracilo
CEPP(B)	Ciclofosfamida, Etopósido, Prednisona, con o sin/ Bleomicina
CEV	Ciclofosfamida, Etopósido, Vincristina
CF	Cisplatino, Fluorouracilo o Carboplatino Fluorouracilo
CHAP	Ciclofosfamida o Ciclofosfamida, Altretamina, Doxorubicina, Cisplatino
ChIVPP	Clorambucilo, Vinblastina, Procarbazina, Prednisona
CHOP	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristina, Prednisona
CHOP-BLEO	Adicionar Bleomicina a CHOP
CISCA	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Cisplatino
CLD-BOMP	Bleomicina, Cisplatino, Vincristina, Mitomicina
CMF	Metotrexato, Fluorouracilo, Ciclofosfamida
CMFP	Ciclofosfamida, Metotrexato, Fluorouracilo,
	Prednisona
CMFVP	Ciclofosfamida, Metotrexato, Fluorouracilo, Vincristina, Prednisona
CMV	Cisplatino, Metotrexato, Vinblastina
CNF	Ciclofosfamida, Mitoxantrona, Fluorouracilo
CNOP	Ciclofosfamida, Mitoxantrona, Vincristina, Prednisona
COB	Cisplatino, Vincristina, Bleomicina
CODE	Cisplatino, Vincristina, Doxorubicina, Etopósido
COMLA	Ciclofosfamida, Vincristina, Metotrexato, Leucovorin, Citarabina
COMP	Ciclofosfamida, Vincristina, Metotrexato, Prednisona
Cooper Regimen	Ciclofosfamida, Metotrexato, Fluorouracilo, Vincristina, Prednisona
COP	Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisona
COPE	Ciclofosfamida, Vincristina, Cisplatino, Etopósido
COPP	Ciclofosfamida, Vincristina, Procarbazina, Prednisona
CP(Leucemia linfocítica crónica)	Clorambucilo, Prednisona

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
CP (Cáncer de ovario)	Ciclofosfamida, Cisplatino
CT	Cisplatino, Paclitaxel
CVD	Cisplatino, Vinblastina, Dacarbazina
CVI	Carboplatino, Etopósido, Ifosfamida, Mesna
CVP	Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisoma
CVPP	Lomustina, Procarbazina, Prednisona
CYVADIC	Ciclofosfamida, Vincristina, Doxorubicina, Dacarbazina
DA	Daunorubicina, Citarabina
DAT	Daunorubicina, Citarabina, Tioguanina
DAV	Daunorubicina, Citarabina, Etopósido
DCT	Daunorubicina, Citarabina, Tioguanina
DHAP	Cisplatino, Citarabina, Dexametasona
DI	Doxorubicina, Ifosfamida
DTIC/Tamoxifen	Dacarbazina, Tamoxifen
DVP	Daunorubicina, Vincristina, Prednisona
EAP	Etopósido, Doxorubicina, Cisplatino
EC	Etopósido, Carboplatino
EFP	Etopósido, Fluorouracilo, Cisplatino
ELF	Etopósido, Leucovorin, Fluorouracilo
EMA 86	Mitoxantrona, Etopósido, Citarabina
EP	Etopósido, Cisplatino
EVA	Etopósido, Vinblastina
FAC	Fluorouracilo, Doxorubicina, Ciclofosfamida
FAM	Fluorouracilo, Doxorubicina, Mitomicina
FAMTX	Metotrexato, Leucovorin, Doxorubicina
FAP	Fluorouracilo, Doxorubicina, Cisplatino

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
F-CL	Fluorouracilo, Leucovorin
FEC	Fluorouracilo, Ciclofosfamida, Epirubicina
FED	Fluorouracilo, Etopósido, Cisplatino
FL	Flutamida, Leuprolide
FZ	Flutamida, Implante de acetato de goserelina
HDMTX	Metotrexato, Leucovorin
Hexa-CAF	Altretamina, Ciclofosfamida, Metotrexato, Fluorouracilo
ICE-T	Ifosfamida, Carboplatino, Etopósido, Paclitaxel, Mesna
IDMTX/6-MP	Metotrexato, Mercaptopurina, Leucovorin
IE	Ifosfamida, Etopósido, Mesna
IfoVP	Ifosfamida, Etopósido, Mesna
IPA	Ifosfamida, Cisplatino, Doxorubicina
M-2	Vincristina, Carmustina, Ciclofosfamida, Prednisona, Melfalán
MAC-III	Metotrexato, Leucovorin, Dactinomicina, Ciclofosfamida
MACC	Metotrexato, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Lomustina
MACOP-B	Metotrexato, Leucovorin, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Bleomicina, Prednisona
MAID	Mesna, Doxorubicina, Ifosfamida, Dacarbazina
m-BACOD	Bleomicina, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Dexametasona, Metotrexato, Leucovorin
MBC	Metotrexato, Bleomicina, Cisplatino
MC	Mitoxantrona, Citarabina
MF	Metotrexato, Fluorouracilo, Leucovorin
MICE	Ifosfamida, Carboplatino, Etopósido, Mesna
MINE	Mesna, Ifosfamida, Mitoxantrona, Etopósido
mini-BEAM	Carmustina, Etopósido, Citarabina, Melfalán
MOBP	Bleomicina, Vincristina, Cisplatino, Mitomicina

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
MOP	Mecloretamina, Vincristina, Procarbazina
MOPP	Mecloretamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisona
MOPP/ABV	Mecloretamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisona, Doxorubicina, Bleomicina, Vinblastina
MP (mieloma múltiple)	Melfalán, Prednisona
MP (cáncer de próstata)	Mitoxantrona, Prednisona
MTX/6-MO	Metotrexato, Mercaptopurina
MTX/6-MP/VP	Metotrexato, Mercaptopurina, Vincristina, Prednisona
MTX-CDDPAdr	Metotrexato, Leucovorin, Cisplatino, Doxorubicina
MV (cáncer de mama)	Mitomicina, Vinblastina
MV (leucemia mielocítica aguda)	Mitoxantrona, Etopósido
M-VAC Metotrexato	Vinblastina, Doxorubicina, Cisplatino
MVP Mitomicina	Vinblastina, Cisplatino
MVPP	Mecloretamina, Vinblastina, Procarbazina, Prednisona
NFL	Mitoxantrona, Fluorouracilo, Leucovorin
NOVP	Mitoxantrona, Vinblastina, Vincristina
OPA	Vincristina, Prednisona, Doxorubicina
OPPA	Adicionar Procarbazina a OPA.
PAC	Cisplatino, Doxorubicina
PAC-I	Cisplatino, Doxorubicina, Ciclofosfamida
PA-CI	Cisplatino, Doxorubicina
PC	Paclitaxel, Carboplatino o Paclitaxel, Cisplatino
PCV	Lomustina, Procarbazina, Vincristina
PE	Paclitaxel, Estramustina
PFL	Cisplatino, Fluorouracilo, Leucovorin
POC	Prednisona, Vincristina, Lomustina

ES 2 899 461 T3

Nombre	Agentes terapéuticos
ProMACE	Prednisona, Metotrexato, Leucovorin, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Etopósido
ProMACE/cytaBOM	Prednisona, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Etopósido, Citarabina, Bleomicina, Vincristina, Metotrexato, Leucovorin, Cotrimoxazol
PRoMACE/MOPP	Prednisona, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Etopósido, Mecloretamina, Vincristina, Procarbazina, Metotrexato, Leucovorin
Pt/VM	Cisplatino, Tenipósido
PVA	Prednisona, Vincristina, Asparaginasa
PVB	Cisplatino, Vinblastina, Bleomicina
PVDA	Prednisona, Vincristina, Daunorubicina, Asparaginasa
SMF	Estreptozocina, Mitomicina, Fluorouracilo
TAD	Mecloretamina, Doxorubicina, Vinblastina, Vincristina, Bleomicina, Etopósido, Prednisona
TCF	Paclitaxel, Cisplatino, Fluorouracilo
TIP	Paclitaxel, Ifosfamida, Mesna, Cisplatino
TTT	Metotrexato, Citarabina, Hidrocortisona
Topo/CTX	Ciclofosfamida, Topotecan, Mesna
VAB-6	Ciclofosfamida, Dactinomicina, Vinblastina, Cisplatino, Bleomicina
VAC	Vincristina, Dactinomicina, Ciclofosfamida
VACAdr	Vincristina, Ciclofosfamida, Doxorubicina, Dactinomicina, Vincristina
VAD	Vincristina, Doxorubicina, Dexametasona
VATH	Vinblastina, Doxorubicina, Tiotepa, Flouximesterona
VBAP	Vincristina, Carmustina, Doxorubicina, Prednisona
VBCMP	Vincristina, Carmustina, Melfalán, Ciclofosfamida, Prednisona
VC	Vinorelbina, Cisplatino
VCAP	Vincristina, Ciclofosfamida, Doxorubicina, Prednisona
VD	Vinorelbina, Doxorubicina
VelP	Vinblastina, Cisplatino, Ifosfamida, Mesna

Nombre	Agentes terapéuticos
VIP	Etopósido, Cisplatino, Ifosfamida, Mesna
VM	Mitomicina, Vinblastina
VMCP	Vincristina, Melfalán, Ciclofosfamida, Prednisona
VP	Etopósido, Cisplatino
V-TAD	Etopósido, Tioguanina, Daunorubicina, Citarabina
5 + 2	Citarabina, Daunorubicina, Mitoxantrona
7 + 3	Citarabina con/, Daunorubicina o Idarubicina o Mitoxantrona
"8 en 1"	Metilprednisolona, Vincristina, Lomustina, Procarbazina, Hidroxiurea, Cisplatino, Citarabina, Dacarbazina

La proliferación de células cancerosas requiere síntesis de lípidos. Normalmente, el acetil-coA utilizado para la síntesis de lípidos se forma a partir de un grupo mitocondrial de piruvato que se deriva de la glucólisis. Sin embargo, bajo condiciones hipóxicas, tales como las que normalmente se encuentran en un entorno tumoral, la conversión de piruvato en acetil-coA dentro de las mitocondrias está subregulada. Estudios recientes de Metallo et al. (2011) y Mullen et al. (2011) revelaron que bajo tales condiciones hipóxicas, las células en su lugar cambian en gran medida a usar una vía que involucra la carboxilación reductora del alfa-cetoglutarato para producir acetil-coA para la síntesis de lípidos. La primera etapa en esta vía involucra convertir la glutamina en glutamato a través de enzimas glutaminasa. Subsecuentemente, el glutamato se convierte en alfa-cetoglutarato, y el alfa-cetoglutarato resultante se convierte en isocitrato en una etapa de carboxilación reductora mediada por las enzimas isocitrato deshidrogenasa. También se produce un cambio a esta vía de carboxilación reductora en algunas líneas celulares de carcinoma renal que contienen mitocondrias deterioradas o una señal deteriorada para la inducción de la enzima responsable de convertir el piruvato glicolítico en acetil-coA (Mullen et al 2011). Un cambio similar ocurre en las células expuestas a los inhibidores de la cadena respiratoria mitocondrial tal como la metformina, la rotenona y la antimicina (Mullen et al. 2011). Por lo tanto, en algunas realizaciones de esta invención, se propone el uso de combinaciones de inhibidores de la cadena respiratoria mitocondrial e inhibidores de la glutaminasa para aumentar simultáneamente la dependencia de las células cancerosas de las rutas dependientes de la glutaminasa para la síntesis de lípidos mientras se inhiben esas mismas rutas.

La dependencia incrementada de la glucólisis en las células tumorales es probable porque el ambiente hipóxico del tumor deteriora la respiración mitocondrial. Adicionalmente, el agotamiento de la glucosa induce la apoptosis en las células transformadas con el oncogén MYC. Estos hallazgos sugieren que inhibir la glucólisis tendría un valor terapéutico para prevenir la proliferación de células cancerosas. Actualmente hay muchos inhibidores glucolíticos documentados (Pelicano et al. 2006). Sin embargo, como lo señalaron Zhao et al. (2012), "los inhibidores glucolíticos disponibles generalmente no son muy potentes y se requieren altas dosis, lo que puede causar altos niveles de toxicidad sistémica". Dado que las células cancerosas generalmente usan glucosa y glutamina a niveles más altos que las células normales, es probable que la utilización perjudicial de cada uno de esos metabolitos tenga un efecto sinérgico. Por lo tanto, en algunas realizaciones de esta invención, se propone el uso de combinaciones de inhibidores de la ruta glucolítica e inhibidores de glutaminasa. Tales inhibidores glucolíticos incluyen 2-desoxiglucosa, lonidamina, 3-bromopiruvato, imatinib, oxitiamina, rapamicina y sus equivalentes farmacológicos. La glucólisis puede inhibirse indirectamente al reducir el NAD+ a través del daño del ADN inducido por los agentes alquilantes del ADN a través de una vía activada por la poli(ADP-ribosa) polimerasa (Zong et al. 2004). Por lo tanto, en una realización de esta invención, se propone usar una combinación de agentes alquilantes de ADN e inhibidores de glutaminasa. Las células cancerosas usan la vía de la pentosa fosfato junto con la vía glucolítica para crear intermedios metabólicos derivados de la glucosa. Por lo tanto, en otra realización de esta invención, se propone usar una combinación de inhibidores de pentosa fosfato tales como 6-aminonicotinamida junto con inhibidores de glutaminasa.

En ciertas realizaciones, un compuesto de la invención puede ser administrado conjuntamente con métodos no químicos de tratamiento del cáncer. En ciertas realizaciones, un compuesto de la invención puede ser para administración conjunta con radioterapia. En ciertas realizaciones, un compuesto de la invención puede ser administrado conjuntamente con cirugía, con termoablación, con terapia de ultrasonido focalizada, con crioterapia, o con cualquier combinación de estos.

En ciertas realizaciones, diferentes compuestos de la invención pueden ser administrados conjuntamente con uno o más de otros compuestos de la invención. Además, tales combinaciones pueden ser administrados conjuntamente con otros agentes terapéuticos, tales como otros agentes adecuados para el tratamiento del cáncer, enfermedades inmunológicas o neurológicas, tales como los agentes identificados anteriormente. En ciertas realizaciones, la administración conjunta de uno o más agentes quimioterapéuticos adicionales con un compuesto de la invención proporciona un efecto sinérgico, tal como se muestra en la Figura 7. En ciertas realizaciones, la administración conjunta de uno o más agentes quimioterapéuticos adicionales proporciona un efecto aditivo.

Aquí se describe un kit que comprende: a) una o más formas de dosificación individuales de un compuesto de la invención; b) una o más formas de dosificación únicas de un agente quimioterapéutico como se menciona anteriormente; y c) instrucciones para la administración del compuesto de la invención y el agente quimioterapéutico.

También se proporciona un kit que comprende:

a) una formulación farmacéutica (por ejemplo, una o más formas de dosificación individuales) que comprende un compuesto de la invención; y

b) instrucciones para la administración de la formulación farmacéutica, por ejemplo, para tratar o prevenir cualquiera de las condiciones discutidas anteriormente.

En ciertas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para la administración de la formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención conjuntamente con un agente quimioterapéutico como se menciona anteriormente. En ciertas realizaciones, el kit comprende además una segunda formulación farmacéutica (por ejemplo, como una o más formas de dosificación individuales) que comprende un agente quimioterapéutico como se mencionó anteriormente.

Definiciones

El término "acilo" está reconocido en la técnica y se refiere a un grupo representado por la fórmula general hidrocarbiloC(O)-, preferiblemente alquilo C(O)-.

El término "acilamino" es reconocido en la técnica y se refiere a un grupo amino sustituido con un grupo acilo y puede estar representado, por ejemplo, por la fórmula hidrocarbiloC(O)NH-.

El término "aciloxi" es reconocido en la técnica y se refiere a un grupo representado por la fórmula general hidrocarbilo C(O)O-, preferiblemente alquilo C(O)O-.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo, preferiblemente un grupo alquilo inferior, que tiene un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, tert-butoxi y similares.

El término "alcoialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo alcoxi y puede estar representado por la fórmula general alquil-O-alquilo.

El término "alqueno", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alifático que contiene al menos un doble enlace y pretende incluir tanto "alquenos no sustituidos" como "alquenos sustituidos", el último de los cuales se refiere a unidades estructurales alqueno que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del grupo alqueno. Tales sustituyentes pueden presentarse en uno o más carbonos que están incluidos o no incluidos en uno o más dobles enlaces. Además, tales sustituyentes incluyen todos aquellos contemplados para grupos alquilo, como se discute a continuación, excepto donde la estabilidad es prohibitiva. Por ejemplo, se contempla la sustitución de grupos alqueno por uno o más grupos alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo.

Un grupo "alquilo" o "alcano" es un hidrocarburo no aromático de cadena lineal o ramificada que está completamente saturado. Típicamente, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a aproximadamente 10, a menos que se defina otra cosa. Ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal y ramificada incluyen metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo, hexilo, pentilo y octilo. Un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada también se denomina como un grupo "alquilo inferior".

Además, el término "alquilo" (o "alquilo inferior") como se usa en toda la especificación, ejemplos y reivindicaciones pretende incluir tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a unidades estructurales alquilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la cadena principal de hidrocarburos. Tales sustituyentes, si no se especifican otra cosa, pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcóxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo o una unidad estructural aromática o heteroaromática. Los expertos en la técnica entenderán que las unidades estructurales sustituidas en la cadena de hidrocarburos pueden sustituirse ellos mismos, si es apropiado. Por ejemplo, los sustituyentes de un alquilo sustituido

5 pueden incluir formas sustituidas y no sustituidas de grupos amino, azido, imino, amido, fosforilo (incluidos fosfonato y fosfinato), sulfonilo (incluidos sulfato, sulfonamido, sulfamoilo y sulfonato) y sililo, así como como éteres, alquiltios, carbonilos (incluyendo cetonas, aldehídos, carboxilatos y ésteres), -CF₃, -CN y similares. Los ejemplos de alquilos sustituidos se describen a continuación. Los cicloalquilos pueden estar además sustituidos con alquilos, alquilenilos, alcoxis, alquiltios, aminoalquilos, alquilos sustituidos con carbonilo, -CF₃, -CN y similares.

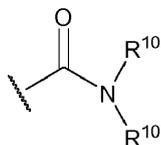
10 El término "C_{x-y}" cuando se usa junto con una unidad estructural química, tal como acilo, aciloxi, alquilo, alqueniilo, alquinilo o alcoxi, pretende incluir grupos que contienen de x a y carbonos en la cadena. Por ejemplo, el término "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarbonados saturados sustituidos o no sustituidos, que incluyen grupos alquilo de cadena lineal y alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluidos grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. El alquilo C₀ indica un hidrógeno donde el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Los términos "alqueniilo C_{2-y}" y "alquinilo C_{2-y}" se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos de longitud análoga y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble o triple respectivamente.

15 El término "alquilamino", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo alquilo.

El término "alquiltio", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo tiol sustituido con un grupo alquilo y puede estar representado por la fórmula general alquilS-

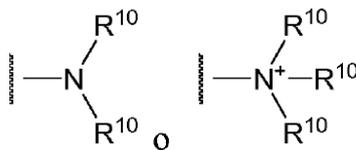
20 El término "alquinilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alifático que contiene al menos un triple enlace y pretende incluir tanto "alquinilos no sustituidos" como "alquinilos sustituidos", el último de los cuales se refiere a unidades estructurales alquinilo que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del grupo alquinilo. Tales sustituyentes pueden aparecer en uno o más carbonos que están incluidos o no incluidos en uno o más enlaces triples. Además, tales sustituyentes incluyen todos aquellos contemplados para grupos alquilo, como se discutió anteriormente, excepto donde la estabilidad es prohibitiva. Por ejemplo, se contempla la sustitución de grupos alquinilo por uno o más grupos alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo.

25 El término "amida", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo



30 en el que cada R₁₀ representa independientemente un grupo hidrógeno o hidrocarbilo, o dos R₁₀ se toman junto con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo.

Los términos "amina" y "amino" son reconocidos en la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas como no sustituidas y sus sales, por ejemplo, una unidad estructural que puede ser representada por



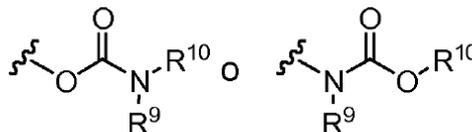
35 en donde cada R₁₀ representa independientemente un hidrógeno o un grupo hidrocarbilo, o dos R₁₀ se toman junto con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo.

El término "aminoalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo amino.

40 El término "aralquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo.

El término "arilo" como se usa en el presente documento incluye grupos aromáticos de anillo único sustituidos o no sustituidos en los que cada átomo del anillo es carbono. Preferiblemente, el anillo es un anillo de 5 a 7 miembros, más preferiblemente un anillo de 6 miembros. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

El término "carbamato" es reconocido en la técnica y se refiere a un grupo



en donde R_9 y R_{10} representan independientemente hidrógeno o un grupo hidrocarbilo, tal como un grupo alquilo, o R_9 y R_{10} tomados junto con los átomos intervinientes completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo.

Los términos "carbociclo" y "carbocíclico", como se usan en el presente documento, se refieren a un anillo saturado o insaturado en el que cada átomo del anillo es carbono. El término carbociclo incluye carbociclos aromáticos y carbociclos no aromáticos. Los carbociclos no aromáticos incluyen anillos de cicloalcano, en los que todos los átomos de carbono están saturados, y anillos de cicloalqueno, que contienen al menos un doble enlace. "Carbociclo" incluye anillos monocíclicos de 5-7 miembros y anillos bicíclicos de 8-12 miembros. Cada anillo de un carbociclo bicíclico puede seleccionarse de anillos saturados, insaturados y aromáticos. El carbociclo incluye moléculas bicíclicas en las que uno, dos o tres o más átomos se comparten entre los dos anillos. El término "carbociclo fusionado" se refiere a un carbociclo bicíclico en el que cada uno de los anillos comparte dos átomos adyacentes con el otro anillo. Cada anillo de un carbociclo fusionado puede seleccionarse de anillos saturados, insaturados y aromáticos. En una realización de ejemplo, un anillo aromático, por ejemplo, fenilo, puede fusionarse a un anillo saturado o insaturado, por ejemplo, ciclohexano, ciclopentano o ciclohexeno. Cualquier combinación de anillos bicíclicos saturados, insaturados y aromáticos, según lo permita la valencia, se incluye en la definición de carbocíclico. Ejemplos de "carbociclos" incluyen ciclopentano, ciclohexano, biciclo[2.2.1]heptano, 1,5-ciclooctadieno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, biciclo[4.2.0]oct-3-eno, naftaleno y adamantano. Los carbociclos fusionados de ejemplo incluyen decalina, naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, biciclo[4.2.0]octano, 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indeno y biciclo[4.1.0]hept-3-eno. Los "carbociclos" pueden estar sustituidos en una o más posiciones capaces de soportar un átomo de hidrógeno.

Un grupo "cicloalquilo" es un hidrocarburo cíclico que está completamente saturado. "Cicloalquilo" incluye anillos monocíclicos y bicíclicos. Típicamente, un grupo cicloalquilo monocíclico tiene de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, más típicamente de 3 a 8 átomos de carbono a menos que se defina otra cosa. El segundo anillo de un cicloalquilo bicíclico puede seleccionarse de anillos saturados, insaturados y aromáticos. El cicloalquilo incluye moléculas bicíclicas en las que uno, dos o tres o más átomos se comparten entre los dos anillos. El término "cicloalquilo fusionado" se refiere a un cicloalquilo bicíclico en el que cada uno de los anillos comparte dos átomos adyacentes con el otro anillo. El segundo anillo de un cicloalquilo bicíclico condensado puede seleccionarse de anillos saturados, insaturados y aromáticos. Un grupo "cicloalquenilo" es un hidrocarburo cíclico que contiene uno o más dobles enlaces.

El término "carbociclilalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo carbociclo.

El término "carbonato" está reconocido en la técnica y se refiere a un grupo $-\text{OCO}_2\text{-R}_{10}$, en el que R_{10} representa un grupo hidrocarbilo.

El término "carboxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo representado por la fórmula $-\text{CO}_2\text{H}$.

El término "éster", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{10}$ en el que R_{10} representa un grupo hidrocarbilo.

El término "éter", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo hidrocarbilo unido a través de un oxígeno a otro grupo hidrocarbilo. En consecuencia, un sustituyente éter de un grupo hidrocarbilo puede ser hidrocarbilo-O-. Los éteres pueden ser simétricos o asimétricos. Ejemplos de éteres incluyen, pero no se limitan a, heterociclo-O-heterociclo y aril-O-heterociclo. Los éteres incluyen grupos "alcoialquilo", que pueden estar representados por la fórmula general alquil-O-alquilo.

Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, significa halógeno e incluyen cloro, flúor, bromo y yodo.

Los términos "hetaralquilo" y "heteroaralquilo", como se usan en el presente documento, se refieren a un grupo alquilo sustituido con un grupo hetarilo.

- 5 El término "heteroalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena saturada o insaturada de átomos de carbono y al menos un heteroátomo, en el que no hay dos heteroátomos adyacentes.

Los términos "heteroarilo" y "hetarilo" incluyen estructuras de anillos individuales aromáticos sustituidos o no sustituidos, preferiblemente anillos de 5 a 7 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen al menos un heteroátomo, preferiblemente de uno a cuatro heteroátomos, más
10 preferiblemente uno o dos heteroátomos. Los términos "heteroarilo" y "hetarilo" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

- 15 El término "heteroátomo" como se usa en el presente documento significa un átomo de cualquier elemento que no sea carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno y azufre.

Los términos "heterociclico", "heterociclo" y "heterocíclico" se refieren a estructuras de anillo no aromáticas sustituidas o no sustituidas, preferiblemente anillos de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen al menos un heteroátomo, preferiblemente de uno a cuatro heteroátomos, más
20 preferiblemente uno o dos heteroátomos. Los términos "heterociclico" y "heterocíclico" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos. Los grupos heterociclico incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

- 25 El término "heterociclicalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo heterociclo.

El término "hidrocarbilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo que está unido a través de un átomo de carbono que no tiene un sustituyente =O o =S, y típicamente tiene al menos un enlace carbono-hidrógeno y un esqueleto principalmente de carbono, pero opcionalmente puede incluir heteroátomos. Por lo tanto, los grupos
30 como metilo, etoxietilo, 2-piridilo y trifluorometilo se consideran hidrocarbilo para los fines de esta solicitud, pero los sustituyentes tal como el acetilo (que tiene un sustituyente =O en el carbono de enlace) y el etoxi (que está enlazado a través de oxígeno, no carbono) no lo son. Los grupos hidrocarbilo incluyen, pero no se limitan a arilo, heteroarilo, carbociclo, heterociclico, alquilo, alquenilo, alquinilo y combinaciones de los mismos.

- 35 El término "hidroxialquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo hidroxilo.

El término "inferior" cuando se usa junto con una unidad estructural química, tal como acilo, aciloxi, alquilo, alquenilo, alquinilo o alcoxi, pretende incluir grupos en los que hay diez o menos átomos distintos de hidrógeno en el sustituyente, preferiblemente seis o menos. Un "alquilo inferior", por ejemplo, se refiere a un grupo alquilo que contiene diez o
40 menos átomos de carbono, preferiblemente seis o menos. En ciertas realizaciones, los sustituyentes acilo, aciloxi, alquilo, alquenilo, alquinilo o alcoxi definidos en el presente documento son respectivamente acilo inferior, aciloxi inferior, alquilo inferior, alquenilo inferior, alquinilo inferior o alcoxi inferior, ya sea que aparezcan solos o en combinación con otros sustituyentes, tal como en las citaciones hidroxialquilo y aralquilo (en cuyo caso, por ejemplo, los átomos dentro del grupo arilo no se cuentan al contar los átomos de carbono en el sustituyente alquilo).

Los términos "policiclico", "policiclo" y "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos) en los que dos o más átomos son comunes a dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos fusionados". Cada uno de los anillos del policiclo puede estar sustituido o no sustituido. En ciertas realizaciones, cada anillo del policiclo contiene de 3 a 10 átomos en el anillo, preferiblemente de 5 a 7.

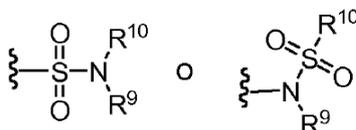
- 50 El término "sililo" se refiere a una unidad estructural de silicio con tres unidades estructurales hidrocarbilo unidos al mismo.

El término "sustituido" se refiere a unidades estructurales que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que tal sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta transformación espontáneamente tal como
55 por reordenamiento, ciclización, eliminación, etc. Como se usa en el presente documento, se contempla que el término "sustituido" incluya todos los sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los

5 sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permitidos pueden ser uno o más e iguales o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como el nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir cualquiera de los sustituyentes descritos en el presente documento, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcóxycarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformato), un alcóxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralkilo o una unidad estructural aromática o heteroaromática. Los expertos en la técnica entenderán que los sustituyentes pueden sustituirse ellos mismos, si es apropiado. A menos que se indique específicamente como "no sustituido", se entiende que las referencias a unidades estructurales químicas en el presente documento incluyen variantes sustituidas. Por ejemplo, la referencia a un grupo o unidad estructural "arilo" incluye implícitamente variantes tanto sustituidas como no sustituidas.

15 El término "sulfato" es reconocido en la técnica y se refiere al grupo $-\text{OSO}_3\text{H}$, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El término "sulfonamida" está reconocido en la técnica y se refiere al grupo representado por las fórmulas generales



20 en donde R_9 y R_{10} representan independientemente hidrógeno o hidrocarbilo, tal como alquilo, o R_9 y R_{10} tomados junto con los átomos intervinientes completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo.

El término "sulfóxido" está reconocido en la técnica y se refiere al grupo $-\text{S(O)}-\text{R}_{10}$, en el que R_{10} representa un hidrocarbilo.

25 El término "sulfonato" está reconocido en la técnica y se refiere al grupo SO_3H , o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

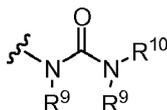
El término "sulfona" está reconocido en la técnica y se refiere al grupo $-\text{S(O)}_2-\text{R}_{10}$, en el que R_{10} representa un hidrocarbilo.

30 El término "tioalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo tiol.

El término "tioéster", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo $-\text{C(O)SR}_{10}$ o $-\text{SC(O)R}_{10}$ en el que R_{10} representa un hidrocarbilo.

El término "tioéter", como se usa en el presente documento, es equivalente a un éter, en el que el oxígeno se reemplaza con un azufre.

35 El término "urea" está reconocido en la técnica y puede estar representado por la fórmula general



40 en donde R_9 y R_{10} representan independientemente hidrógeno o un hidrocarbilo, tal como alquilo, o la presencia de R_9 tomada junto con R_{10} y los átomos intervinientes completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo.

"Grupo protector" se refiere a un grupo de átomos que, cuando se une a un grupo funcional reactivo en una molécula, enmascara, reduce o previene la reactividad del grupo funcional. Típicamente, un grupo protector se puede eliminar

selectivamente según se desee durante el curso de una síntesis. Se pueden encontrar ejemplos de grupos protectores en Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3rd Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY y Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, Nueva York. Los grupos protectores de nitrógeno representativos incluyen, pero no se limitan a, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxicarbonilo ("CBZ"), tert-butoxicarbonilo ("Boc"), trimetilsililo ("TMS"), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo ("TES"), grupos tritilo y tritilo sustituido, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo ("Fmoc"), nitro-veratrilocarbonilo ("Nvoc") y similares. Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen, pero no se limitan a, aquellos en los que el grupo hidroxilo es acilado (esterificado) o alquilado tal como bencilo y tritiléteres, así como alquiléteres, tetrahidropiraniéteres, trialkilsililéteres (por ejemplo, grupos TMS o TIPS), éteres de glicol, tales como derivados de etilenglicol y propilenglicol y éteres de alilo.

El término "proveedores de atención médica" se refiere a individuos u organizaciones que brindan servicios de atención médica a una persona, comunidad, etc. Ejemplos de "proveedores de atención médica" incluyen médicos, hospitales, comunidades de retiro de atención continua, centros de enfermería especializada, centros de atención subaguda, clínicas, clínicas de multiespecialidad, centros ambulatorios independientes, agencias de atención médica a domicilio y los HMO.

Como se usa en el presente documento, un agente terapéutico que "previene" un trastorno o condición se refiere a un compuesto que, en una muestra estadística, reduce la aparición del trastorno o condición en la muestra tratada en relación con una muestra de control no tratada, o retrasa el inicio o reduce la gravedad de uno o más síntomas del trastorno o condición en relación con la muestra de control no tratada.

El término "tratamiento" incluye tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" es reconocido en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la condición no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la condición no deseada), mientras que si se administra después manifestación de la condición no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o estabilizar la condición no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).

El término "profármaco" pretende abarcar compuestos que, bajo condiciones fisiológicas, se convierten en los agentes terapéuticamente activos de la presente invención (por ejemplo, un compuesto de fórmula I). Un método común para hacer un profármaco es incluir una o más unidades estructurales seleccionadas que se hidrolizan bajo condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. El profármaco también se puede convertir mediante una actividad enzimática del animal huésped. Por ejemplo, los ésteres o carbonatos (por ejemplo, ésteres o carbonatos de alcoholes o ácidos carboxílicos) son profármacos preferidos de la presente divulgación. Algunos o todos los compuestos de fórmula I en una formulación representada anteriormente pueden reemplazarse con el profármaco adecuado correspondiente, por ejemplo, en el que un hidroxilo en el compuesto original se presenta como un éster o un carbonato o ácido carboxílico presente en el compuesto original se presenta como un éster.

Composiciones Farmacéuticas

Las composiciones de la presente invención y los métodos descritos en este documento pueden utilizarse para tratar a un individuo que lo necesite. En ciertas realizaciones, el individuo es un mamífero tal como un humano o un mamífero no humano. Cuando se administra a un animal, tal como un humano, la composición o el compuesto se administra preferiblemente como una composición farmacéutica que comprende, por ejemplo, un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas como agua o solución salina fisiológicamente regulada u otros solventes o vehículos tales como glicoles, glicerol, aceites tales como el aceite de oliva o ésteres orgánicos inyectables. En una realización preferida, cuando tales composiciones farmacéuticas son para administración humana, particularmente para rutas de administración invasivas (es decir, rutas, tales como inyección o implantación, que evitan el transporte o la difusión a través de una barrera epitelial), la solución acuosa está libre de pirógenos, o sustancialmente libre de pirógenos. Los excipientes se pueden elegir, por ejemplo, para efectuar la liberación retardada de un agente o para seleccionar selectivamente una o más células, tejidos u órganos. La composición farmacéutica puede estar en forma de unidad de dosificación tal como tableta, cápsula (incluyendo cápsula de espolvoreado y cápsula de gelatina), gránulo, líofilo para reconstitución, polvo, solución, jarabe, supositorio, inyección o similares. La composición también puede estar presente en un sistema de administración transdérmica, por ejemplo, un parche para la piel. La composición también puede estar presente en una solución adecuada para administración tópica, tal como una gota para los ojos.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener agentes fisiológicamente aceptables que actúen, por ejemplo, para estabilizar, aumentar la solubilidad o aumentar la absorción de un compuesto tal como un compuesto de la invención. Tales agentes fisiológicamente aceptables incluyen, por ejemplo, carbohidratos, tal como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatión, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular u otros estabilizadores o excipientes. La elección de un vehículo farmacéuticamente aceptable, que incluye un agente fisiológicamente aceptable, depende, por ejemplo, de la ruta de administración de la composición. La preparación de la composición farmacéutica puede ser un sistema de administración de fármacos

autoemulsionantes o un sistema de administración de medicamentos automicroemulsificantes. La composición farmacéutica (preparación) también puede ser un liposoma u otra matriz polimérica, que puede haber incorporado en ella, por ejemplo, un compuesto de la invención. Los liposomas, por ejemplo, que comprenden fosfolípidos u otros lípidos, son portadores no tóxicos, fisiológicamente aceptables y metabolizables que son relativamente simples de fabricar y administrar.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un agente de relleno líquido o sólido, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuate, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Se puede administrar una composición farmacéutica (preparación) a un sujeto por cualquiera de una serie de rutas de administración que incluyen, por ejemplo, por vía oral (por ejemplo, impregnaciones como en soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas, tabletas, cápsulas (incluidas las cápsulas para espolvorear y cápsulas de gelatina), bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación en la lengua); absorción a través de la mucosa oral (por ejemplo, sublingualmente); anal, rectal o vaginalmente (por ejemplo, como pesario, crema o espuma); parenteralmente (incluyendo intramuscularmente, por vía intravenosa, subcutánea o intratecalmente como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril); por vía nasal; intraperitonealmente; subcutáneamente, transdérmicamente (por ejemplo, como un parche aplicado a la piel); y tópicamente (por ejemplo, como una crema, ungüento o aerosol aplicado a la piel, o como una gota para los ojos). El compuesto también puede formularse para inhalación. En ciertas realizaciones, un compuesto puede simplemente disolverse o suspenderse en agua estéril. Los detalles de las rutas de administración apropiadas y las composiciones adecuadas para los mismos se pueden encontrar, por ejemplo, en la patente de EE.UU. Nos. 6,110,973, 5,763,493, 5,731,000, 5,541,231, 5,427,798, 5,358,970 y 4,172,896, así como en las patentes allí citadas.

Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo del huésped que se esté tratando, el modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación generalmente será la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, del cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, lo más preferiblemente de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de asociar un compuesto activo, tal como un compuesto de la invención, con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con vehículos líquidos, o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, conformando el producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas (incluidas cápsulas de espolvoreado y cápsulas de gelatina), sellos, píldoras, tabletas, comprimidos para deshacer en la boca (usando una base aromatizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto), liófilo, polvos, gránulos, o como solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tales como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como ingrediente activo. Las composiciones o compuestos también pueden administrarse como un bolo, electuario o pasta.

Para preparar formas de dosificación sólidas para administración oral (cápsulas (incluidas las cápsulas de espolvorear y las cápsulas de gelatina), tabletas, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla

- con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tal como el citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) agentes de relleno o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardadores de la solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos; (10) agentes complejantes, tales como ciclodextrinas modificadas y no modificadas; y (11) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas (incluidas las cápsulas de espolvoreado y las cápsulas de gelatina), tabletas y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como agentes de relleno en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.
- 15 Se puede hacer una tableta por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, almidón glicolato sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o agente dispersante. Las tabletas moldeadas pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.
- 20 Las tabletas y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas, tales como grageas, cápsulas (incluidas las cápsulas de espolvoreado y las cápsulas de gelatina), píldoras y gránulos, opcionalmente pueden marcarse o prepararse con recubrimientos y conchas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos. conocido en la técnica de formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición que liberan el ingrediente o ingredientes activos solo, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.
- 35 Las formas de dosificación líquidas útiles para la administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, liófilos para reconstitución, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, ciclodextrinas y derivados de los mismos, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semillas de algodón, cacahuate, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y mezclas de los mismos.
- 40 Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.
- 45 Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo, ésteres de polioxietileno sorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y sus mezclas.
- 50 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas para administración rectal, vaginal o uretral se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más compuestos activos con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, que es sólida a temperatura ambiente, pero líquida a temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.
- Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas para administración a la boca pueden presentarse como un enjuague bucal, o un aerosol oral, o una pomada oral.
- 55 Alternativa o adicionalmente, las composiciones se pueden formular para la entrega a través de un catéter, stent, alambre u otro dispositivo intraluminal. La entrega a través de tales dispositivos puede ser especialmente útil para el suministro a la vejiga, la uretra, el uréter, el recto o el intestino.

Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen los portadores que se conocen en la técnica como apropiados.

5 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, regulador o propelente que se requiera.

10 Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y aerosoles pueden contener, además de un compuesto activo, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

15 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Tales formas de dosificación pueden prepararse disolviendo o dispersando el compuesto activo en el medio apropiado. Los potenciadores de la absorción también se pueden usar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse proporcionando una membrana de control de la tasa o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

20 Las formulaciones oftálmicas, pomadas para ojos, polvos, soluciones y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta invención. Formulaciones oftálmicas de ejemplo se describen en las Publicaciones de los Estados Unidos Nos. 2005/0080056, 2005/0059744, 2005/0031697 y 2005/004074 y la Patente de los Estados Unidos No. 6,583,124. Si se desea, las formulaciones oftálmicas líquidas tienen propiedades similares a las de los fluidos lagrimales, el humor acuoso o el humor vítreo o son comparables con tales fluidos. Una ruta de administración preferida es la administración local (por ejemplo, administración tópica, tales como gotas para los ojos, o administración a través de un implante).

30 Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", como se usa en el presente documento, significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, usualmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaco, intradérmico intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

35 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos activos en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, reguladores, bacteriostatos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes.

40 Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, como el oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

45 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede garantizarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenol-sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede lograr mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

50 En algunos casos, para prolongar el efecto de un medicamento, es deseable disminuir la absorción del medicamento de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende de su velocidad de disolución, que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

- Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la tasa de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el medicamento en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.
- Para uso en los métodos de esta invención, los compuestos activos pueden administrarse per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, del 0.1 al 99.5% (más preferiblemente, del 0.5 al 90%) de ingrediente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- Los métodos de introducción también pueden proporcionarse mediante dispositivos recargables o biodegradables. Diversos dispositivos poliméricos de liberación lenta se han desarrollado y probado in vivo en los últimos años para el suministro controlado de medicamentos, incluidos los biofarmacéuticos proteicos. Se puede usar una variedad de polímeros biocompatibles (incluidos los hidrogeles), incluidos los polímeros biodegradables y no degradables, para formar un implante para la liberación sostenida de un compuesto en un sitio objetivo particular.
- Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente.
- El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular o combinación de compuestos empleados, o el éster, sal o amida del mismo, la ruta de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción de los compuestos particulares empleados, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con los compuestos particulares empleados, la edad, el sexo, el peso, la condición, la salud general y el historial médico previo del paciente tratado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.
- Un médico o veterinario con experiencia normal en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar las dosis de la composición farmacéutica o compuesto a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta que se logre el efecto deseado. Por "cantidad terapéuticamente efectiva" se entiende la concentración de un compuesto que es suficiente para provocar el efecto terapéutico deseado. En general, se entiende que la cantidad efectiva del compuesto variará según el peso, el sexo, la edad y el historial médico del sujeto. Otros factores que influyen en la cantidad efectiva pueden incluir, entre otros, la gravedad de la condición del paciente, el trastorno que se está tratando, la estabilidad del compuesto y, si se desea, otro tipo de agente terapéutico administrado con el compuesto de la invención. Las administraciones múltiples del agente pueden administrar una dosis total mayor. Los expertos en la técnica conocen métodos para determinar la eficacia y la dosificación (Isselbacher et al. (1996) Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882).
- En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto activo usado en las composiciones y métodos de la invención será la cantidad del compuesto que sea la dosis más baja efectiva para producir un efecto terapéutico. Tal dosis efectiva generalmente dependerá de los factores descritos anteriormente.
- Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias. En ciertas realizaciones de la presente invención, el compuesto activo puede administrarse dos o tres veces al día. En realizaciones preferidas, el compuesto activo se administrará una vez al día.
- El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluidos los primates, en particular los humanos, y otros mamíferos tales como equinos, bovinos, porcinos y ovinos; y aves de corral y mascotas en general.
- En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden ser usados solos o administrados conjuntamente con otro tipo de agente terapéutico. Como se usa en el presente documento, la expresión "administración conjunta" se refiere a cualquier forma de administración de dos o más compuestos terapéuticos diferentes de manera que el segundo compuesto se administre mientras el compuesto terapéutico administrado previamente sigue siendo eficaz en el cuerpo (por ejemplo, los dos compuestos son simultáneamente eficaces en el paciente, que puede incluir efectos sinérgicos de los dos compuestos). Por ejemplo, los diferentes compuestos terapéuticos se pueden administrar en la misma formulación o en una formulación separada, ya sea de forma concomitante o secuencial. En ciertas realizaciones, los diferentes compuestos terapéuticos pueden administrarse dentro de una hora, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 72 horas, o una semana entre sí. Por lo tanto, un individuo que recibe dicho tratamiento puede beneficiarse de un efecto combinado de diferentes compuestos terapéuticos.
- Esta invención incluye el uso de sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de la invención en las composiciones de la presente invención y los métodos descritos en este documento. En ciertas realizaciones, las sales contempladas de la invención incluyen, pero sin limitación, sales de alquilo, dialquilo, trialquilo o tetraalquilamonio. En ciertas realizaciones, las sales contempladas de la invención incluyen, pero sin limitación, L-arginina, benentamina, benzatrina, betaína, hidróxido de calcio, colina, deanol, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)etanol, etanolamina,

etilendiamina, N-metilglucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, litio, L-lisina, magnesio, 4-(2-hidroxi)etil)morfolina, piperazina, potasio, 1-(2-hidroxi)etil)pirrolidina, sodio, trietanolamina, trometamina y sales de zinc. En ciertas realizaciones, las sales contempladas de la invención incluyen, pero no se limitan a, Na, Ca, K, Mg, Zn u otras sales metálicas.

5 Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables también pueden existir como diversos solvatos, tales como con agua, metanol, etanol, dimetilformamida y similares. También se pueden preparar mezclas de tales solvatos. La fuente de dicho solvato puede ser del disolvente de cristalización, inherente al disolvente de preparación o cristalización, o adventicio a tal disolvente.

10 También pueden estar presentes en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

15 Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

20 Aquí se describe un método para llevar a cabo un negocio farmacéutico, mediante la fabricación de una formulación de un compuesto de la invención, o un kit como se describe en este documento, y comercializando a los proveedores de atención médica los beneficios de usar la formulación o kit para tratar o prevenir cualquiera de las enfermedades o condiciones como se describe en este documento.

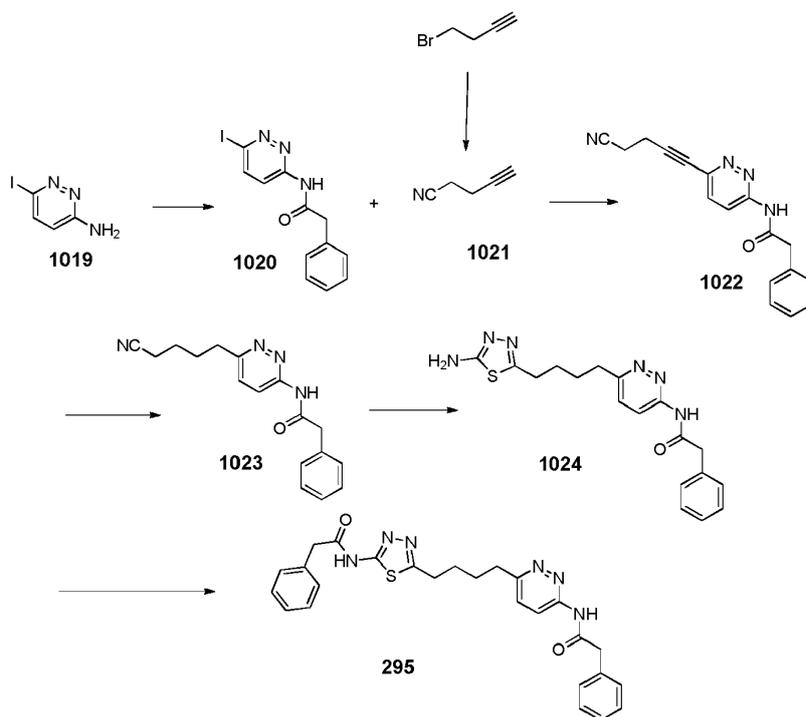
Aquí se describe un método para llevar a cabo un negocio farmacéutico, al proporcionar una red de distribución para vender una formulación de un compuesto de la invención, o un kit como se describe aquí, y proporcionar material de instrucción a pacientes o médicos para usar la formulación para tratar o prevenir cualquier de las enfermedades o condiciones como se describe en este documento.

25 En este documento se describe un método para llevar a cabo un negocio farmacéutico, mediante la determinación de una formulación y dosificación apropiadas de un compuesto de la invención para tratar o prevenir cualquiera de las enfermedades o condiciones como se describe en este documento, realizando perfiles terapéuticos de formulaciones identificadas para la eficacia y toxicidad en animales y proporcionar una red de distribución para vender una preparación identificada con un perfil terapéutico aceptable. En ciertas realizaciones, el método incluye además proporcionar un grupo de ventas para comercializar la preparación a proveedores de atención médica.

30 Aquí se describe un método para llevar a cabo un negocio farmacéutico mediante la determinación de una formulación y dosificación apropiadas de un compuesto de la invención para tratar o prevenir cualquiera de las enfermedades o condiciones como se describe aquí, y otorgar licencias a un tercero de los derechos para un mayor desarrollo y venta de la formulación.

35 Ejemplos

Ejemplo 1: Protocolos sintéticos



5 A una suspensión de 1019 (1.5 g, 6.8 mmoles) en CH_2Cl_2 (15 ml) a 0°C se añadió Et_3N (1.9 ml, 13.6 mmoles) gota a gota seguido de cloruro de fenilacetilo (1.07 ml, 8.1 mmoles) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0°C y luego se calentó lentamente hasta temperatura ambiente durante 2 días. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con EtOAc al 0-25% en hexano para proporcionar 1020.

10 A una solución de 4-bromo-1-butino (7 g, 53 mmol) en DMSO (30 ml) a 0°C se añadió NaI (7.94 g, 53 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h antes de enfriarla a 0°C y luego se añadió NaCN (5.2 g, 106 mmol). La mezcla resultante se calentó a 80°C durante 2.5 h y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se sometió a partición entre agua y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para proporcionar 1021.

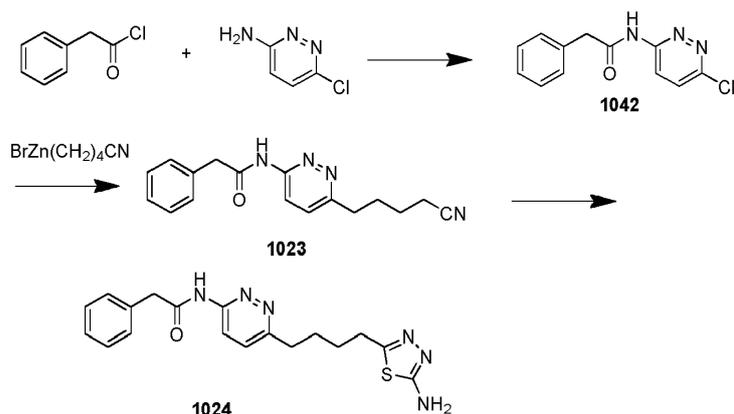
15 A una mezcla de 1020 (400 mg, 1.18 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (41 mg, 0.059 mmol) y CuI (11 mg, 0.059 mmol) en Et_3N (3 ml) y THF (6 ml) bajo atmósfera de argón. se agregaron 1021 (187 mg, 2.36 mmol), luego se calentaron a 60°C durante la noche. Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con EtOAc al 0-60% en hexano para proporcionar 1022.

A una solución de 1022 (118 mg, 0.406 mmol) en la mezcla de EtOAc (60 ml) y EtOH (15 ml) se añadió $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (50 mg, 0.356 mmol). Se burbujeó hidrógeno a través de la mezcla resultante y se agitó durante 1 h. El catalizador de Pd se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 1023.

20 Una mezcla de 1023 (127 mg, 0.431 mmol) y tiosemicarbazida (51 mg, 0.561 mmol) en TFA (3 ml) se calentó a 85°C durante 5 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió sobre una mezcla de agua con hielo. La mezcla se basificó con gránulos de NaOH (pH 10). El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en CH_2Cl_2 para proporcionar 1024.

25 A una solución de 1024 (38.4 mg, 0.104 mmol) en NMP (1 ml) a 0°C se añadió cloruro de fenilacetilo (0.017 ml, 0.125 mmol) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1.5 h antes de inactivarse mediante la adición de agua (~ 10 ml). La mezcla se sometió a partición entre agua y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en CH_2Cl_2 para proporcionar 295. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.65 (s, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J = 8.82$ Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, $J = 9.72$ Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 10H), 3.81-3.78 (d, $J = 8.43$ Hz, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

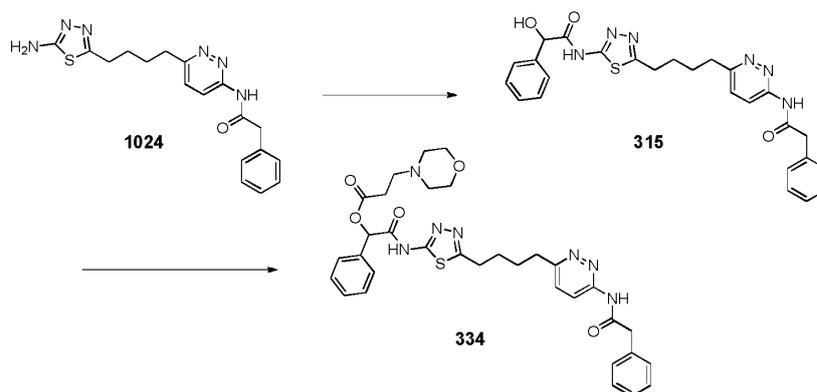
30 El compuesto 1024 también se puede preparar de acuerdo con el siguiente procedimiento:



A una solución de 3-amino-6-cloropiridazina (11.14 g, 86.0 mmol) en NMP (279 ml) a 19 °C se añadió cloruro de fenilacetilo (18.2 ml, 137.6 mmol) gota a gota durante 5 minutos con la temperatura interna de la solución T_i mantenido ≤ 28 °C. La mezcla resultante se agitó a 19°C durante 90 minutos y se vertió en agua con hielo (557 ml). El precipitado blanco se recogió mediante filtración por succión, se enjuagó con agua (2x110 ml) y éter dietílico (110 ml). El producto se secó durante la noche bajo alto vacío para proporcionar N-(6-cloropiridazin-3-il)-2-fenilacetamida (xxx, 18.8 g). ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.57(s, 1H), 8.40(d, J=9.636 Hz, 1H), 7.90(d, J=9.516 Hz, 1H), 7.36(m, 5H) 3.82(s, 2H)

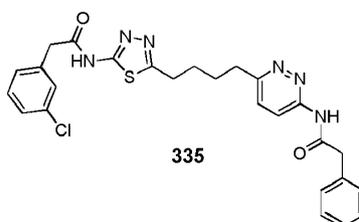
Un matraz de tres cuellos de 1000 ml equipado con sonda de temperatura interna y embudo de adición se enjuagó con $\text{Ar}_{(g)}$. Bajo presión positiva de argón, se cargó bromuro de 4-cianobutilzinc (0.5 M en THF, 500 ml, 250 mmol) en el embudo de adición y luego se añadió al recipiente de reacción a temperatura ambiente. Se añadió N-(6-cloropiridazin-3-il)-2-fenilacetamida sólida (20.6 g, 83.3 mmol) a la solución agitada a temperatura ambiente bajo flujo de $\text{Ar}_{(g)}$, seguido de la adición de $\text{NiCl}_2(\text{dppp})$ (4.52 g 8.33 mmol). La mezcla resultante se agitó a 19°C durante 240 minutos y luego se inactivó con etanol (120 ml). Se añadió agua (380 ml) a la solución roja agitada, dando un precipitado espeso. Se añadió acetato de etilo (760 ml) y se agitó bien durante 30 minutos. Los sólidos se eliminaron por filtración a través de una almohadilla de celite. El licor madre se transfirió luego a un embudo de decantación y la capa orgánica se lavó con H_2O (380 ml), solución de ácido etilendiaminotetraacético al 0.5% (380 ml) y nuevamente con H_2O (380 ml). La capa orgánica se concentró por rotoevaporación. El aceite rojo resultante se redisolvió en EtOAc (200 ml) y se añadió HCl 1 M (380 ml) al matraz bien agitado. Después de 30 minutos, la mezcla se transfirió al embudo separador y se recogió la capa acuosa. La capa orgánica se extrajo con HCl 1 M (2x380 ml). El pH de la capa acuosa se ajustó luego a ~ 7 usando una solución de bicarbonato de sodio al 7.5% y el precipitado de color amarillo pálido se recogió por filtración por succión, se enjuagó con agua (200 ml) y éter dietílico (2x200 ml). El sólido se secó durante la noche bajo alto vacío para proporcionar N-(6-(4-cianobutil) piridazin-3-il)- 2-fenilacetamida (1023, 14.76 g). ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.29(s, 1H), 8.23(d, J=9.036 Hz, 1H), 7.59(d, J=9.246 Hz, 1H), 7.32(m, 5H), 3.79(s, 2H), 2.90(t, J= 7.357 Hz, 2H), 2.56(t, J= 7.038 Hz, 2H), 1.79(t, J= 7.311 Hz, 2H), 1.63(t, J= 7.01 Hz, 2H)

Se cargó N-(6-(4-cianobutil) piridazin-3-il)-2-fenilacetamida (14.7 g, 50.2 mmol) en un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un condensador de reflujo superior abierto. Al matraz se le añadió tiosemicarbazida (5.03 g, 55.2 mmol) y ácido trifluoroacético (88 ml). La suspensión de reacción se calentó en un baño a 65°C durante 2 h. Después de enfriar a TA, se añadió H_2O (150 ml) y se agitó durante 30 minutos. La mezcla se transfirió luego lentamente a una solución agitada de bicarbonato de sodio al 7.5% (1400 ml) enfriada en un baño a 0°C. El precipitado se recogió por filtración por succión, se enjuagó con agua (2x200 ml), éter dietílico (2x200 ml) y se secó bajo alto vacío durante la noche. El sólido blanquecino se suspendió en DMSO (200 ml) y se calentó en un baño a 80°C hasta que la temperatura interna alcanzó los 65°C. Se usó DMSO (105 ml) para enjuagar los lados del matraz. Se añadió lentamente H_2O (120 ml) hasta que la solución se volvió ligeramente turbia y luego la mezcla se retiró del baño de calor y se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agitaba. El precipitado de color verde pálido se recogió por filtración por succión, se enjuagó con agua (200 ml) y éter dietílico (2x200 ml). El sólido se secó durante la noche a alto vacío para proporcionar N-(6-(4-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il) butil) piridazin-3-il)-2-fenilacetamida (1024, 15.01 g). ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.28(s, 1H), 8.23(d, J=8.916 Hz, 1H), 7.59(d, J=8.826 Hz, 1H), 7.36(m, 5H), 7.07(s, 2H), 3.78(s, 2H), 2.87(t, J= 6.799 Hz, 4H), 1.69(bm, 4H).

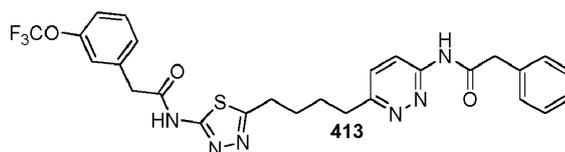


Se cargó un matraz con 1024 (500 mg, 1.36 mmol), ácido DL-mandélico (248 mg, 1.63 mmol) en DMF (10 ml) a 0°C y se añadió HOBT (441 mg, 3.26 mmol) seguido de EDCI (781 mg, 4.08 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 10 minutos, luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos antes de que se enfriara mediante la adición de agua (~ 50 ml) a 0°C. El precipitado blanco se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua y se secó para proporcionar 315. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.65 (s, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 8.82 Hz, 1H), 7.58-7.50 (m, 3H), 7.36-7.28 (m, 8H), 6.35 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

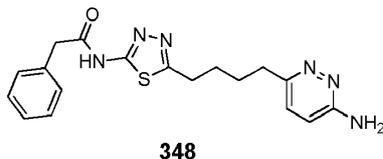
A una suspensión de hidrocloreto de ácido 3-morfolin-4-il-propiónico (209 mg, 1.07 mmol) en DMF (10 ml) se añadió EDCI (308 mg, 1.61 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1 hora y luego se añadió 315 (447 mg, 0.889 mmol) y 4-DMAP (261 mg, 2.14 mmol). La mezcla resultante se agitó de 0°C a temperatura ambiente durante un período de 6 h antes de inactivarse mediante la adición de agua con hielo (~ 50 ml). El precipitado blanco se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en EtOAc para proporcionar 334. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.95 (s, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.45 Hz, 1H), 7.58-7.26 (m, 11H), 6.14 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.54 (bs, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.63 (bs, 4H), 2.38 (bs, 4H), 1.73 (bs, 4H).



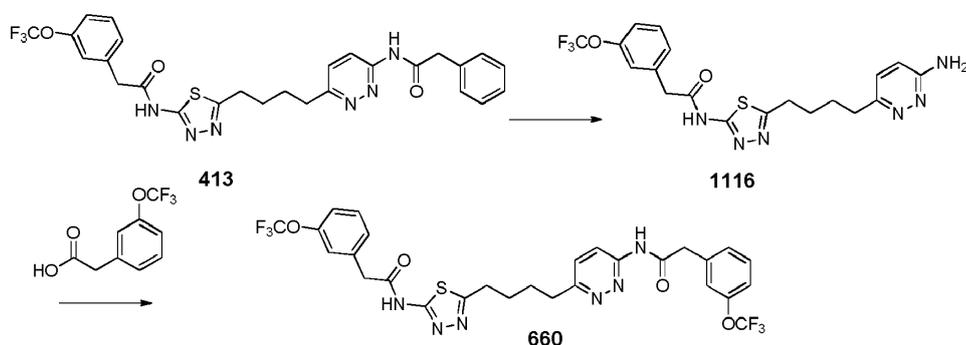
Se cargó un matraz con 1024 (50 mg, 0.135 mmol), ácido 3-clorofenilacético (28 mg, 0.163 mmol) en DMF (1 ml) a 0°C y se añadió HOBT (44 mg, 0.362 mmol) seguido de EDCI (78 mg, 0.408 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h antes de inactivarse mediante la adición de agua (~ 5 ml). El precipitado blanco se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua y éter y luego se secó para proporcionar 335. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.65 (s, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 8.82 Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, J = 9.72 Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 9H), 3.84 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



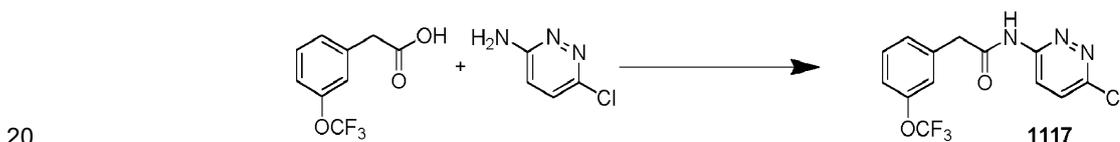
El compuesto 413 se preparó de acuerdo con el procedimiento anterior para la preparación del compuesto 315. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.68 (bs, 1H), 11.26 (s, 1H), 8.20 (d, J = 9.46 Hz, 1H), 7.58-7.26 (m, 10H), 3.90 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.02 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.74 (bs, 4H).



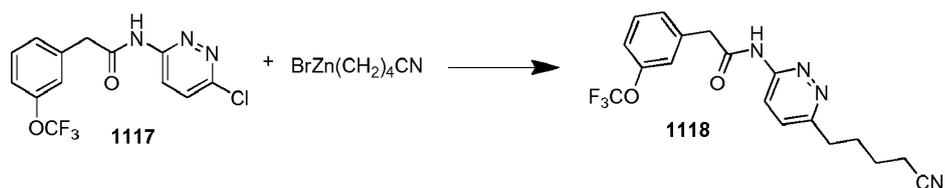
5 A una suspensión de 295 (30 mg, 0.0617 mmol) en MeOH (2 ml) a 0°C se añadió solución de NaOH 2N (2 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó al vacío y la mezcla se acidificó con HCl 1N a pH 6. El precipitado blanco se recogió por filtración con succión, se enjuagó con más agua y se secó para proporcionar 348. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7.32-7.24 (m, 5H), 7.15-7.12 (d, J = 9.57 Hz, 1H), 6.72-6.69 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 6.09 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 2.99-2.96 (bs, 2H), 2.76-2.70 (bs, 2H), 1.70 (bs, 4H).



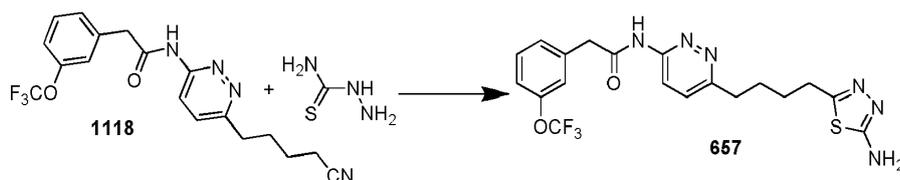
10
15 A una mezcla de 413 (1.62 g) en MeOH (25 ml), THF (10 ml) y H₂O (10 ml) a temperatura ambiente se añadió NaOH 1N acuoso (8 ml). Esta mezcla se agitó durante 24 h antes de eliminar el volátil orgánico bajo presión reducida. El residuo se neutralizó a pH 7 con solución de HCl 1N acuosa y extraída con EtOAc (2 × 20 ml). El extracto combinado se secó (MgSO₄) y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 1-15% en diclorometano (DCM) para proporcionar la amina 1116. La amina resultante 1116 se convirtió a 660 como se describe para 335. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.68 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.52-7.21 (m, 8H), 3.90 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).



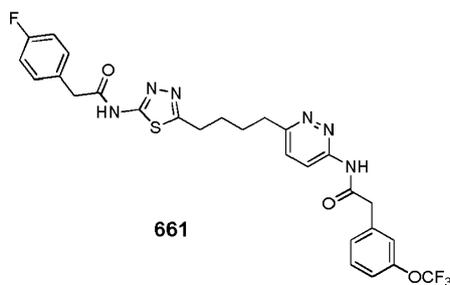
20
25
30 Se disolvieron 3-amino-6-cloropiridazina (55.5 g, 0.428 mol) y ácido 3-(trifluorometoxi) fenilacético (1.1 equiv., 0.471 mol, 104 g) en DMF (30.0 vol., 1.66 l) en un matraz de fondo redondo con tres cuellos de 3000 ml. La adición de DIEA (1.1 equiv., 0.471 mol, 82 ml) a través del embudo de adición se realizó durante 5 minutos. La solución de anhídrido propilfosfónico (300 ml de una solución al 50% en DMF, 1.1 equiv., 0.471 mol) se cargó en un embudo de adición de 500 ml y se añadió gota a gota a la solución de reacción (manteniendo la temperatura de reacción ≤ +30 °C). La reacción usualmente se completa después de 3 horas (TLC: 6:4 hexanos-acetato de etilo). La mezcla de reacción se vertió luego en bicarbonato de sodio al 7.5% (80.0 vol., 4.4 l) que se enfrió en un baño de hielo. El polvo cristalino blanquecino se filtró a través de un embudo Büchner, se enjuagó con agua (20.0 vol., 1.1 L). Secado al vacío a 50 °C hasta un peso constante para proporcionar N-(6-cloropiridazin-3-il)-2-(3-(trifluorometoxi) fenil) acetamida 1117: rendimiento de 119.6 g (77%). ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.63 (s, 1H), 8.38(d, J=9.4 Hz, 1H), 7.88(d, J=9.4 Hz, 1H), 7.52 - 7.27(m, 4H), 3.90(s, 2H).



5 La solución de bromuro de 4-cianobutilzinc (3.0 equiv., 0.50 mol, 1.0 l) se cargó en un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 5000 ml purgado con gas argón. Purga de argón(g) durante 5 minutos seguido de la adición de 1117 (1.0 equiv., 0.167 mol, 55.3 g) y NiCl₂ (dppp) (0.15 equiv., 0.0251 mol, 13.6 g) bajo una capa de argón(g). La reacción usualmente se completa después de 4 horas (TLC: 1: 1 hexanos-acetato de etilo). Se añadió EtOAc (15 vol., 832 ml) a una solución de color rojo intenso. Se añadió agua (15 vol., 832 ml), se formó una suspensión espesa. Se agregó HCl 1N hasta que la suspensión se rompió a una capa azul pálida (~6 vol., 333 ml). Transferido al embudo de decantación y la capa orgánica se lavó con HCl 1N (2x500 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró por evaporación rotatoria (baño ≤ 30 °C) a un aceite sólido rojizo. El aceite disuelto en diclorometano (15 vol., 832 ml), sílica gel (100 g) se suspendió en una solución roja, esta se concentró por evaporación rotatoria (baño ≤ 30 °C) a un polvo rojizo sólido. Cargado sobre un lecho de sílica gel (5 cm x 11 cm), enjuagado con hexanos al 25% en acetato de etilo (3 L), compuestos orgánicos concentrados por evaporación rotatoria (baño ≤ 30 °C). Secado bajo alto vacío hasta un peso constante para proporcionar N-(6-(4-cianobutil) piridazin-3-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)acetamida 1118: rendimiento de 58.2 g (92%). ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.41 (s, 1H), 8.28(d, J=9.2 Hz, 1H), 7.65(d, J=9.2 Hz, 1H), 7.52 - 7.27(m, 4H), 3.89(s, 2H), 2.92(t, J=7.5 Hz, 2H), 2.56(t, J=7.0 Hz, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.61 (m, 2H).

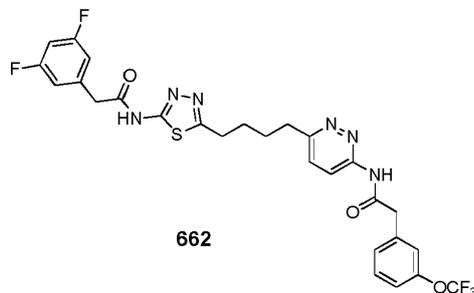


20 Se cargaron 1118 (1.0 equiv., 0.154 mol, 58.2 g) en un matraz de fondo redondo de 500 ml junto con tiosemicarbazida (1.2 equiv., 0.184 mol, 16.8 g). Se añadió lentamente TFA (5 vol., 291 ml) al recipiente de reacción mientras se agitaba. La suspensión de reacción se calentó en un baño a 65°C con un condensador de reflujo superior abierto. La reacción usualmente se completa después de 5 horas (determinada por LC/MS). Se añadió tolueno (10 vol., 582 ml) a una solución de color rojo intenso, sometido a azeotropía por evaporación rotatoria (baño ≤ 30 °C) a un aceite rojo. Se transfiere lentamente el aceite a un matraz Erlenmeyer de 6000 ml bien agitado que contiene una solución de bicarbonato de sodio al 7.5% (69 vol., 4.0 l) enfriado en un baño a 0°C. Los cristales se filtraron a través de un embudo Büchner y se enjuagaron dos veces con éter dietílico (5 vol., 2x250 ml). Secado a alto vacío hasta un peso constante para proporcionar N-(6-(4-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il) butil) piridazin-3-il)-2-(3-(trifluorometoxi) fenil) acetamida 657; rendimiento de 55.7 g (80%). ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.33 (s, 1H), 8.21(d, J=9.2 Hz, 1H), 7.58(d, J=9.2 Hz, 1H), 7.51 - 7.26(m, 4H), 6.99(s, 2H), 3.88(s, 2H), 2.87(m, 4H), 1.71 (m, 4H).



35 A una solución de 657 (50 mg, 0.11 mmol) en DMF (3 ml) a 0 °C se añadió ácido 4-fluorofenilacético (22 mg, 0.14 mmol), HOBt (30 mg, 0.22 mmol) y EDCI (42 mg, 0.22 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 h antes de enfriarse a 0°C y se inactivó con H₂O. El precipitado se recogió por filtración por succión y se

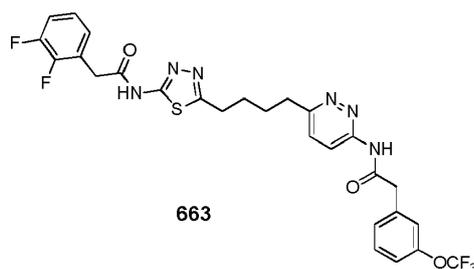
purificó adicionalmente por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 1-10% en DCM para proporcionar 661. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.65 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.49-7.14 (m, 8H), 3.87 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).



5

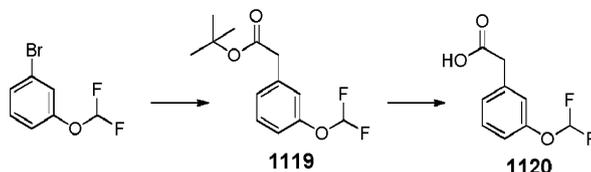
662 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.67 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.51-7.07 (m, 7H), 3.89 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).

10



663 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.74 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.51-7.19 (m, 7H), 3.97 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).

15

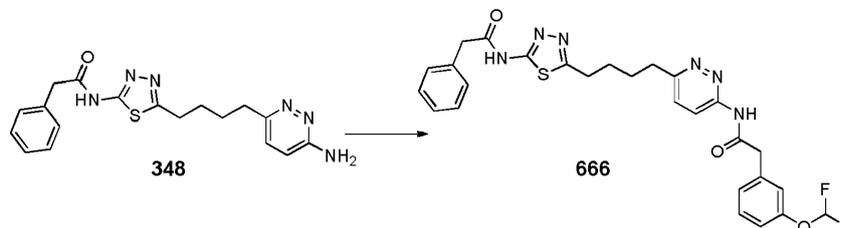


20

A una mezcla de 1-bromo-3-(difluorometoxi)benzene (1 g, 4.5 mmol), bis(tri-*tert*-butilfosfina)paladio (0) (460 mg, 0.9 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) bajo atmósfera de argón se añadieron 0.5 M de cloruro de 2-*tert*-butoxi-2-oxoetilzinc en éter (22.5 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se sometió a partición entre NH_4Cl saturado y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con EtOAc al 0-10% en hexano para proporcionar 1119.

25

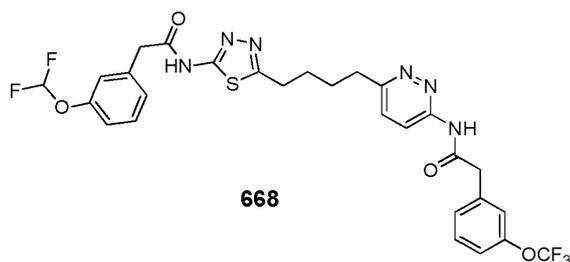
A una solución de 1119 (300 mg, 1.16 mmol) en DCM (5 ml) a 0 °C se le añadió TFA (3 ml) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche antes de evaporarse hasta sequedad y luego se trituró el residuo con éter para proporcionar 1120.



5

Se cargó un matraz con 348 (50 mg, 0.135 mmol), 1120 (28 mg, 0.142 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C se añadió HOBT (39 mg, 0.285 mmol) seguido de EDCI (68 mg, 0.356 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche antes de inactivarse mediante la adición de agua con hielo (~ 5 ml). El precipitado blanco se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en diclorometano para proporcionar 666. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.12 Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, J = 9.03 Hz, 1H), 7.48-6.98 (m, 10H), 3.81 (bs, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

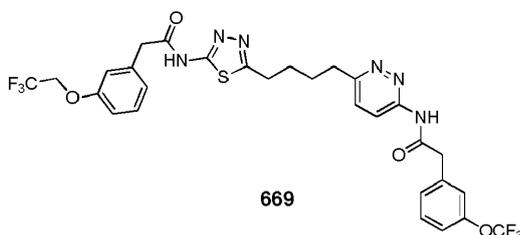
10



15

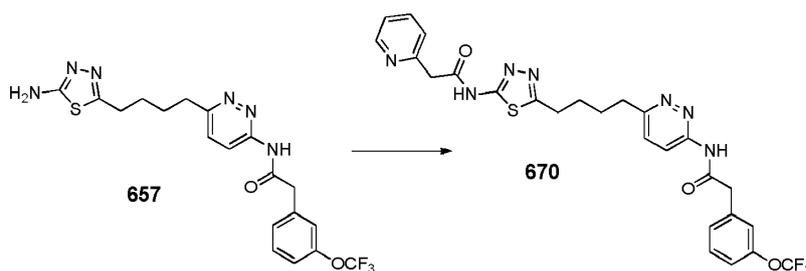
668 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 7.58-6.99 (m, 10H), 3.87-3.84 (d, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

20

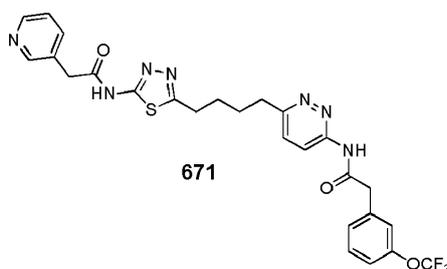


25

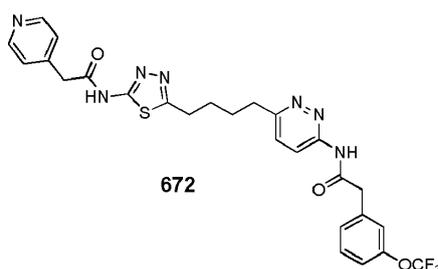
669 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.09 Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, J = 9.37 Hz, 1H), 7.48-7.28 (m, 6H), 7.03-6.97 (m, 2H), 4.77-4.74 (q, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



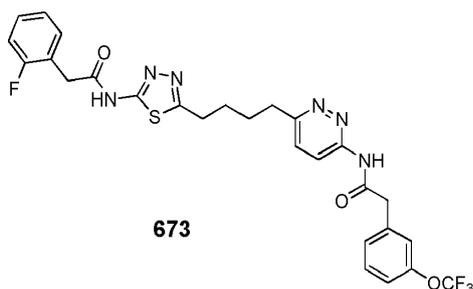
Un matraz se cargó con 657 (50 mg, 0.111 mmol), clorhidrato de ácido 2-piridin acético (20 mg, 0.116 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C se trató con una solución de anhídrido propilfosfónico (91 ul) seguido de trietilamina (40 ul, 0.29 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h antes de inactivarse mediante la adición de agua con hielo (~ 5 ml). El precipitado amarillo se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua. El material crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en DCM para proporcionar 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.67 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.53-8.49 (m, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.12 Hz, 1H), 7.78-7.76 (t, 1H), 7.58-7.26 (m, 7H), 4.01 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



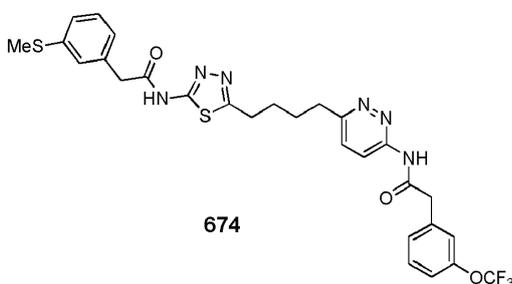
671 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.70 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.53-8.48 (m, 2H), 8.22-8.19 (d, J = 9.12 Hz, 1H), 7.76-7.26 (m, 7H), 3.87 (s, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



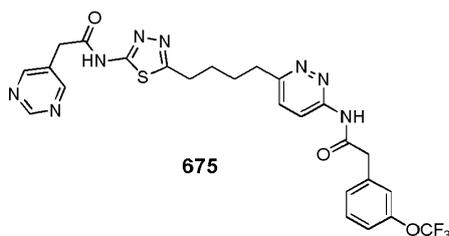
672 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.32 (s, 1H), 8.53-8.52 (bs, 2H), 8.22-8.19 (d, J = 9.12 Hz, 1H), 7.58-7.26 (m, 7H), 3.87 (s, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



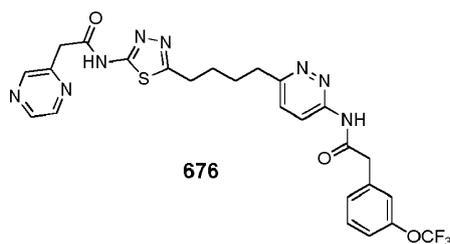
5 673 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.69 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.51-7.21 (m, 8H), 3.90 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).



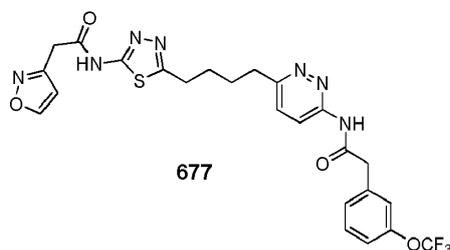
10 674 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.63 (bs, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.51-7.38 (m, 3H), 7.33-7.09 (m, 5H), 3.87 (s, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 2.48 (s, 3H), 1.77-1.72 (m, 4H).



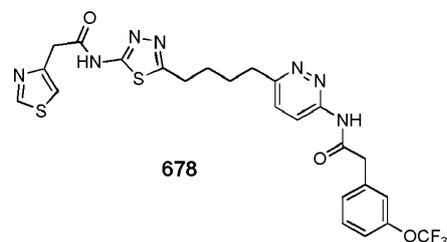
15 Se cargó un matraz con 657 (70 mg, 0.155 mmol), ácido 5-pirimidinacético (22 mg, 0.162 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C se añadió HOBT (44 mg, 0.326 mmol) seguido de EDCI (78 mg, 0.408 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche antes de inactivarse mediante la adición de agua con hielo (~ 5 ml). El precipitado blanco se recogió por filtración por succión, se enjuagó con más agua. El material
 20 crudo se purificó por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 0-6% en DCM para proporcionar 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J = 9.12$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 3.94 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



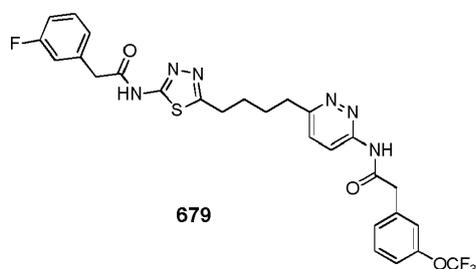
5 676 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.61-8.57 (m, 2H), 8.22-8.19 (d, $J = 9.36$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 5H), 4.11 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H)



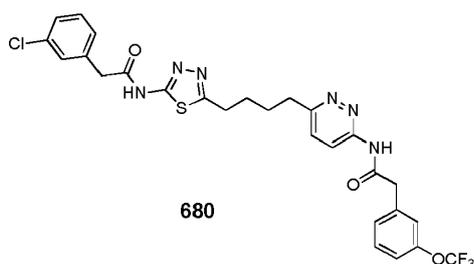
10 677 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J = 9.15$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 5H), 6.62 (s, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



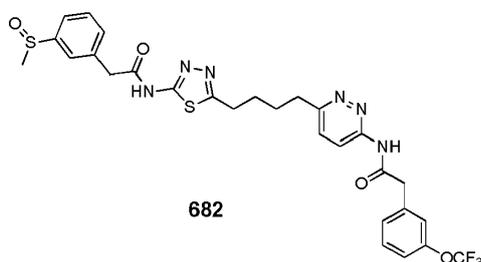
15 678 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J = 9.21$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 4.03 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



20 679 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.67 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.51-7.36 (m, 4H), 7.29-7.12 (m, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).

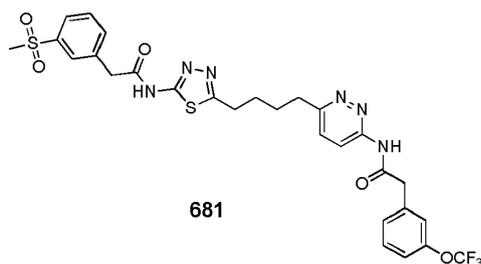


5 680 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.67 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.51-7.28 (m, 8H), 3.87 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).

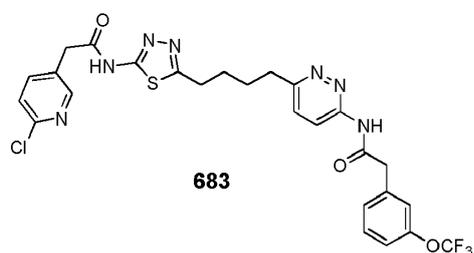


10 A una solución de 674 (100 mg, 0.16 mmol) en DCM a -78°C se añadió m-CPBA (60 mg, 0.24 mmol) en 4 porciones. La mezcla resultante se agitó a esa temperatura durante 1 hora antes de calentarse lentamente hasta -10°C y se inactivó con 25% de solución acuosa de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. La reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO_3 (3×10 ml). La capa orgánica combinada se separó, se lavó con salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC para proporcionar 682. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.72 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.60-7.26 (m, 8H), 3.91 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 2.76 (s, 3H), 1.77-1.72 (m, 4H).

15

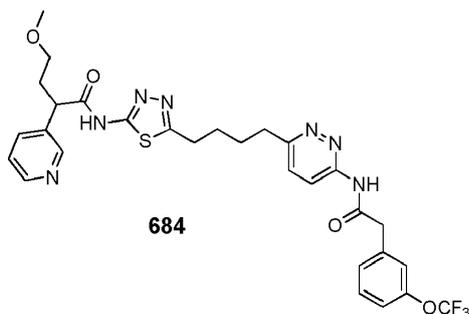


20 681 se preparó a partir de 657 y ácido 3-metilsulfonilfenil acético mediante el procedimiento descrito para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.72 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.92-7.83 (m, 2H), 7.70-7.26 (m, 7H), 3.93 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).



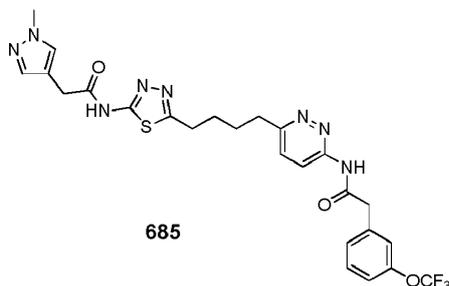
683 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.18$ Hz, 1H), 7.84-7.80 (d, $J=9.36$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 3.90-3.87 (d, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

5



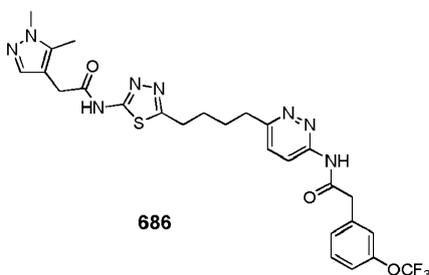
684 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.51-8.49 (d, $J=9.18$ Hz, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.79-7.75 (d, $J=9.36$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 4.07 (t, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.30-3.28 (m, 1H), 3.19 (s, 3H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.3-2.5 (m, 1H), 1.99-1.96 (m, 1H), 1.73 (bs, 4H).

10



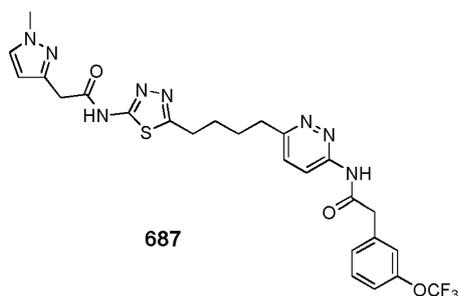
685 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.52 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.61-7.25 (m, 7H), 3.87 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.62 (s, 2H), 3.06-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).

15

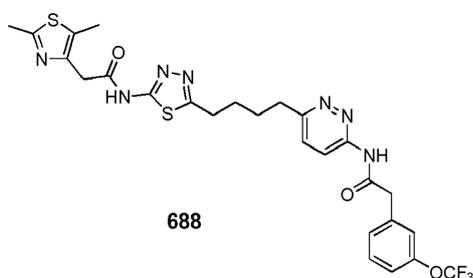


20

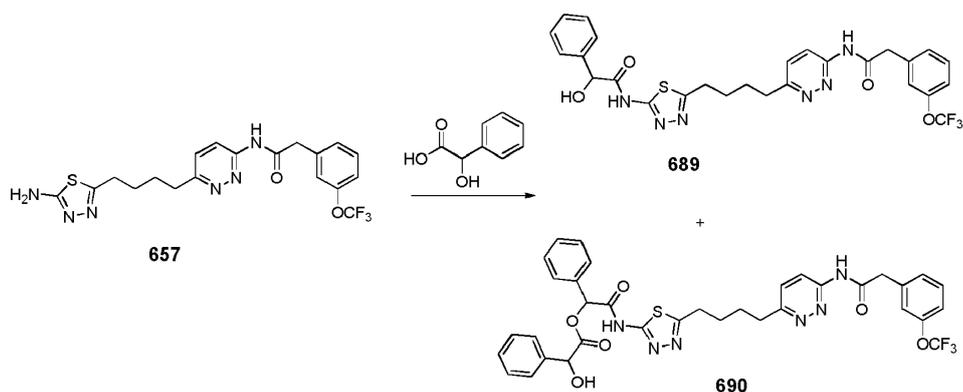
686 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.53 (bs, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.20 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 7.52-7.26 (m, 4H), 5.96 (s, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.06-2.86 (m, 4H), 2.21 (s, 3H), 1.77-1.72 (m, 4H).



5 687 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.56 (bs, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.61-7.38 (m, 6H), 6.17 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.75 (s, 2H), 3.03-2.90 (m, 4H), 1.7 -1.72 (m, 4H).

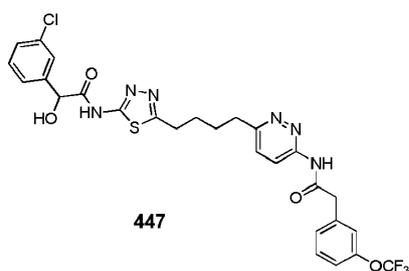


10 688 se preparó mediante el procedimiento como se describe para el compuesto 661. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.61 (bs, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.51-7.26 (m, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.07-2.86 (m, 4H), 1.77-1.72 (m, 4H).



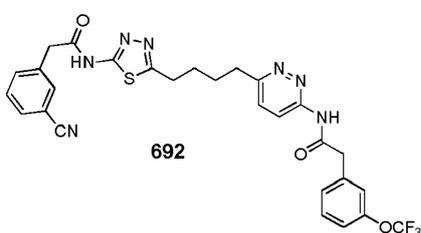
15 A una solución de 657 (200 mg, 0.44 mmol) en DMF (4 ml) a 0 °C se añadió ácido mandélico (124 mg, 0.66 mmol), HOBt (119 mg, 0.88 mmol) y EDCI (170 mg, 0.88 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 h antes de enfriarse a 0°C y se inactivó con H_2O . El precipitado se recogió por filtración por succión y se purificó adicionalmente por cromatografía sobre sílica gel eluyendo con MeOH al 1-10% en DCM para proporcionar 690 y un 689 más polar. 689: ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.42 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.58-7.27 (m, 10H), 6.35 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 5.34 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.03-2.89 (m, 4H), 1.77-1.73 (m, 4H). 690: ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.05 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 15H), 6.26 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.38 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.03-2.88 (m, 4H), 1.76-1.73 (m, 4H).

20



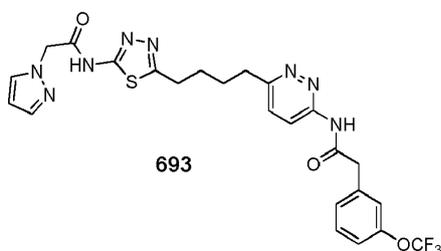
447 se preparó a partir de 657 y ácido 3-cloromandelico mediante el procedimiento descrito para el compuesto 689. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.48 (bs, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 9H), 6.53 (m, 1H), 5.36 (t, $J = 0.7$ Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.03-2.90 (m, 4H), 1.75-1.71 (m, 4H).

5



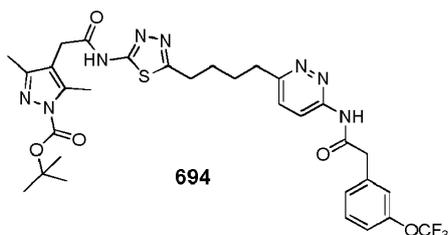
692 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J = 9.18$ Hz, 1H), 7.80-7.26 (m, 9H), 3.92 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

10



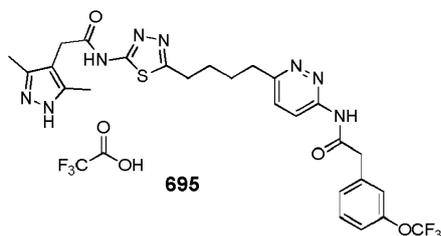
693 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J = 9.06$ Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 6.31 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).

15

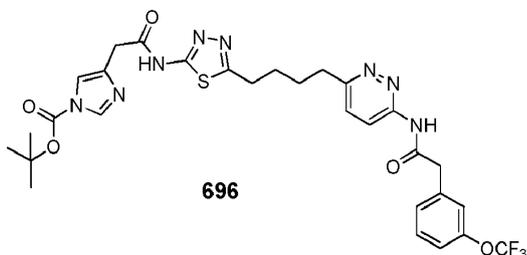


20

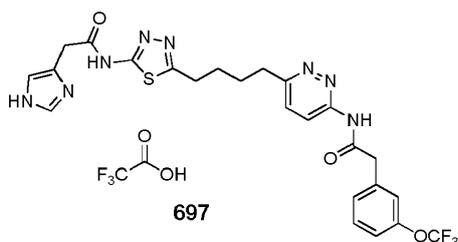
694 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 675. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.18 (d, $J = 9.15$ Hz, 1H), 7.58-7.54 (d, $J = 9.18$ Hz, 1H), 7.48-7.26 (m, 4H), 3.87 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.73 (bs, 4H), 1.57 (s, 9H).



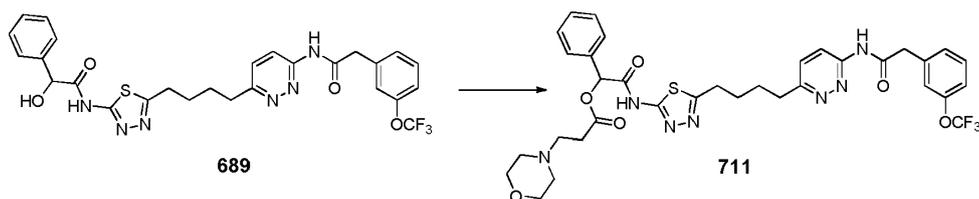
5 A una solución de 694 (50 mg, 0.081 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (2 ml) a 0°C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h antes de evaporarse bajo vacío hasta sequedad. Se añadió éter y el precipitado blanco se recogió mediante filtración por succión, se enjuagó con más éter para proporcionar 695. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.36 Hz, 1H), 7.60-7.57 (d, J = 9.27 Hz, 1H), 7.51-7.28 (m, 4H), 3.88 (s, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.73 (bs, 4H).



10 696 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 695. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.30 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.58-7.54 (d, J = 9.30 Hz, 1H), 7.48-7.28 (m, 5H), 3.87 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H), 1.59 (s, 9H).

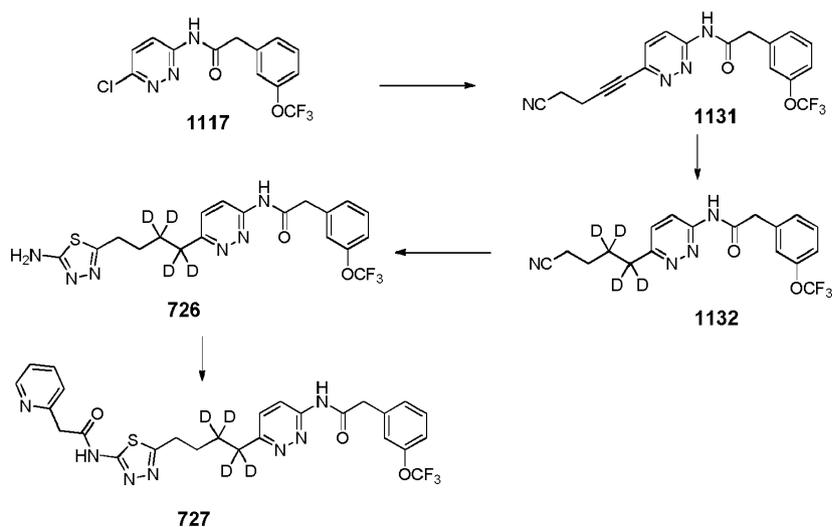


15 697 se preparó utilizando el procedimiento descrito para el compuesto 695. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 14.22 (s, 1H), 12.71 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.15 Hz, 1H), 7.59-7.26 (m, 6H), 4.04 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.73 (bs, 4H).



A una suspensión del clorhidrato del ácido 3-morfolin-4-ilpropiónico (113 mg, 0.58 mmol) en DMF (8 ml) a 0 °C se añadió clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (130 mg, 0.67 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 40 min y luego se añadió 689 (300 mg, 0.48 mmol) y 4-DMAP (165 mg, 1.35 mmol). La mezcla resultante se agitó desde 0 °C hasta temperatura ambiente durante un periodo de 3.5 h antes de diluirla con EtOAc y agua fría. La fase orgánica se separó y se lavó con agua (3 × 15 mL), salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-15% en CH₂Cl₂ para proporcionar 711 (297 mg) como un sólido blanco. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 10.75 (bs, 1H), 8.49 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.50-7.26 (m, 7H), 7.16-7.15 (m, 1H), 6.51 (s, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.80-3.72 (m, 4H), 3.88-2.81 (m, 8H), 2.75-2.71 (m, 5H), 1.89 (m, 4H).

10



15

Una mezcla de 1117 (4.00 g, 12.06 mmol), 4-pentinitrilo (2.11 mL, 24.12 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (847 mg, 1.21 mmol), CuI (184 mg, 0.96 mmol) y Et₃N (13.44 mL, 96.48 mmol) en DMF (18 mL) se calentó a 55 °C durante 5 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en una mezcla de agua-hielo. El precipitado se recogió mediante filtración por succión y se secó al aire. El producto crudo se recristalizó adicionalmente en una mezcla de *i*-PrOH-H₂O en primer lugar y luego en *i*-PrOH para proporcionar el alquino 1131.

20

Una mezcla del alquino 1131 (6.00 g) y Pd(OH)₂/C (1.00 g) en una mezcla de EtOAc (150 mL), THF (75 mL) y MeOH (75 mL) se agitó bajo 1 atm de D₂ a temperatura ambiente durante 3 h antes de separar el catalizador por filtración en un lecho corto de SiO₂ y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró para proporcionar el producto crudo, el cual se recristalizó adicionalmente en una mezcla de EtOAc y éter para obtener el alcano deseado 1132 como un sólido blanquecino (6.01 g).

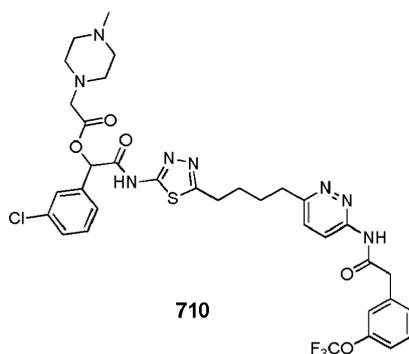
25

Una mezcla del nitrilo 1132 (5.20 g, 13.61 mmol) y tiosemicarbazida (1.61 g, 17.69 mmol) en TFA (75 mL) se calentó a 80 °C durante 4 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en una mezcla de agua-hielo. La mezcla se basificó con pellets de NaOH (pH 14). El precipitado blanco se recogió mediante filtración por succión, se lavó con agua y se secó para proporcionar 726 (5.87 g).

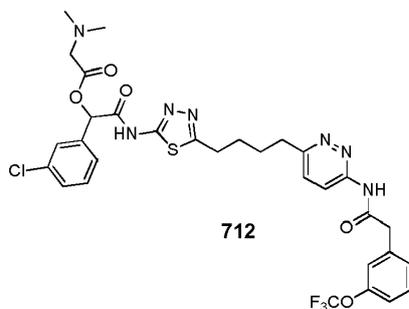
30

A una solución de 726 (1.40 g, 3.07 mmol) y la sal de HCl del ácido 2-piridilacético (1.49 g, 8.59 mmol) en DMF (20 mL) a 0 °C se añadió Et₃N (1.50 mL, 10.73 mmol) y luego anhídrido 1-propanofosfónico (2.73 mL, al 50% en DMF, 4.29 mmol). Esta mezcla se agitó durante 2.5 h a temperatura ambiente antes de enfriarla de nuevo hasta 0 °C y desactivarla con H₂O-hielo. El precipitado se recogió mediante filtración por succión y se secó al aire. Este producto crudo se purificó adicionalmente mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-15% en DCM para proporcionar 727 (0.97 g). ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.67 (s, 1H), 11.31 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.20 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.78 (dt, *J* = 1.8, 7.6 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.51-7.26 (m, 6H), 4.02 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.03 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.73 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H).

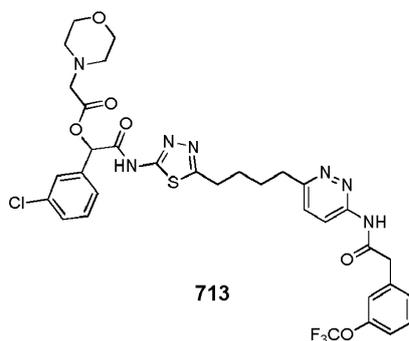
35



5 El compuesto 710 se preparó a partir del compuesto 447 utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 711. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.32 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.62-7.26 (m, 9H), 6.16 (s, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.52-3.50 (d, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.80-2.71(m, 11H), 1.73 (bs, 4H).

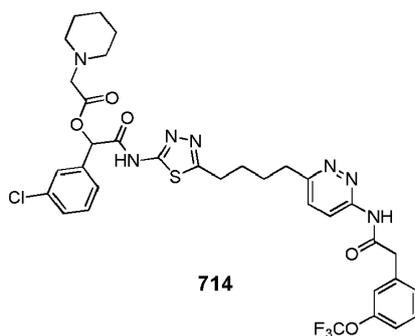


10 El compuesto 712 se preparó a partir del compuesto 447 utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 711. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.32 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.62-7.26 (m, 9H), 6.16 (s, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.38-3.36 (d, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.29 (s, 6H), 1.73 (bs, 4H).

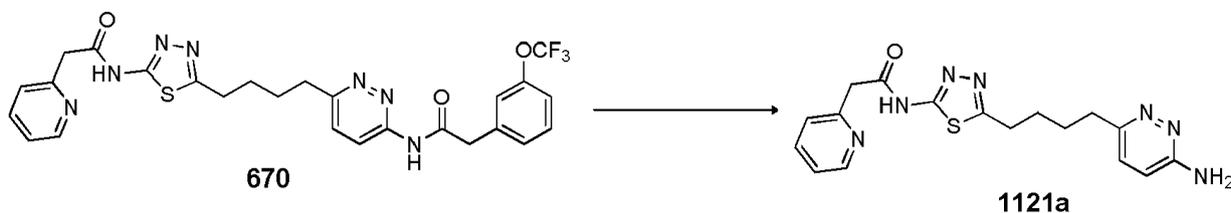


15 El compuesto 713 se preparó a partir del compuesto 447 utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 711. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.11 (bs, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.62-7.26 (m, 9H), 6.16 (s, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.60-3.57 (m, 4H), 3.44-3.42 (d, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.55-2.51 (m, 4H), 1.73 (bs, 4H).

20

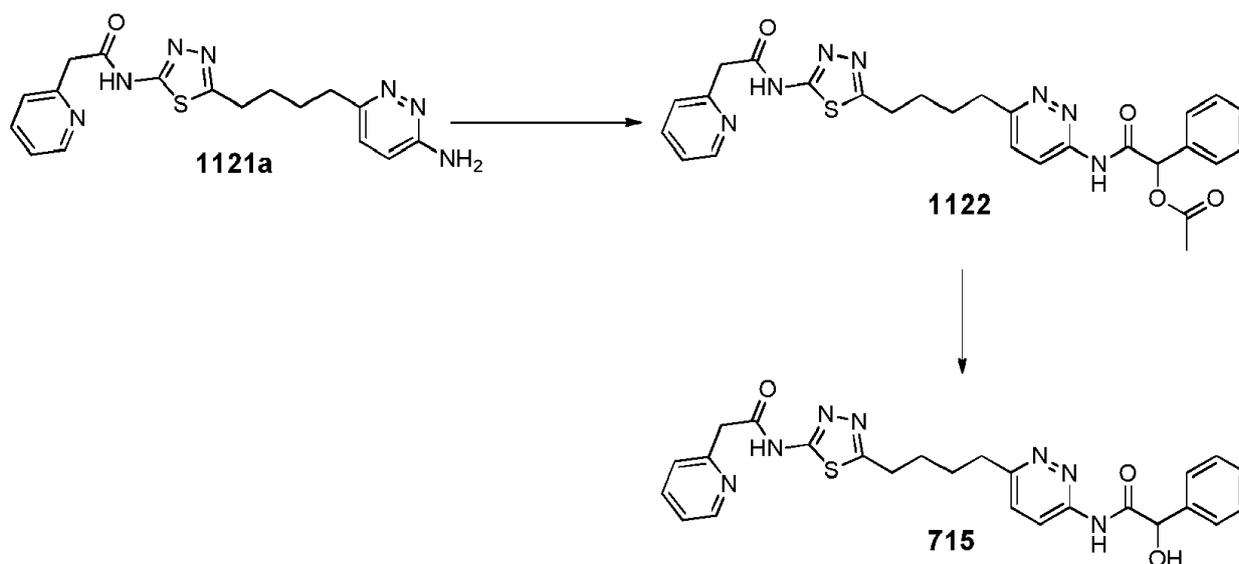


5 El compuesto 714 se preparó a partir del compuesto 447 utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 711. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (s, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.62-7.26 (m, 9H), 6.16 (s, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.38-3.31 (d, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.49-2.47 (m, 4H), 1.93 (bs, 4H), 1.73 (bs, 4H), 1.72 (bs, 2H).



10 A una suspensión de 670 (3 g, 5.24 mmol) en MeOH (50 ml) a 0 °C se añadió una solución de NaOH 2 N (20 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se evaporó el disolvente al vacío y la mezcla se acidificó con HCl 1 N hasta pH 6. El precipitado blanco se recogió mediante filtración por succión, se lavó con más agua y se secó para proporcionar 1121a. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.66 (s, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.42-7.28 (m, 2H), 7.16-7.13 (d, 1H), 6.73-6.70 (d, 1H), 6.10 (s, 2H), 4.0 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.71 (bs, 2H), 1.70 (bs, 4H).

15

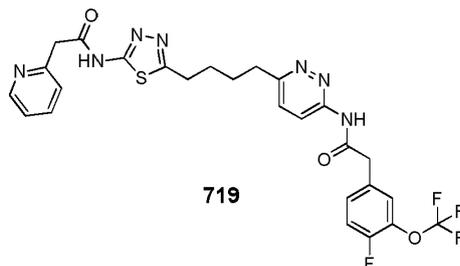


20 A una solución de 1121a (20 mg, 0.054 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (11 μl , 0.081 mmol) gota a gota y luego cloruro de ácido o-acetilmandélico (15 μl , 0.065 mmol) gota a gota. La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, antes de desactivarla mediante la adición de agua (~3

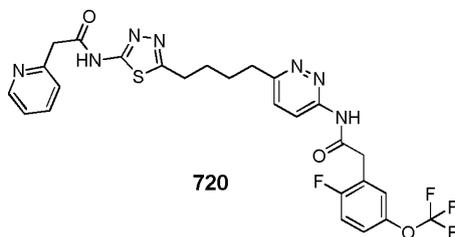
ml) a 0 °C. La mezcla se repartió entre agua y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-5% en DCM para proporcionar 1122.

5 Un matraz se cargó con 1122 (20 mg, 0.037 mmol) y amoniaco 2 N en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se evaporó el disolvente al vacío y la mezcla se lavó disgregándola con éter. El precipitado blanco se recogió mediante filtración por succión, se lavó con éter y se secó para proporcionar 715. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.66 (s, 1H), 10.61 (s, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.61-7.53 (m, 3H), 7.42-7.28 (m, 5H), 6.49-6.47 (d, 1H), 5.30-5.28 (d, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.02 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.75 (bs, 4H).

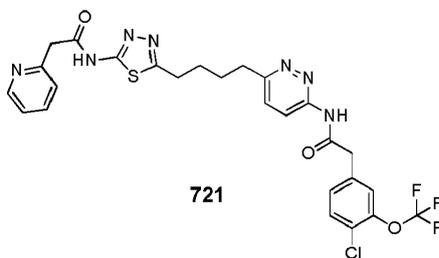
10



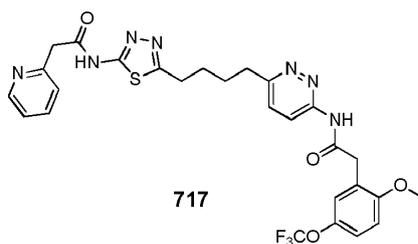
15 El compuesto 719 se preparó utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.66 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.79-7.76 (m, 1H), 7.59-7.30 (m, 6H), 4.0 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.75 (bs, 4H).



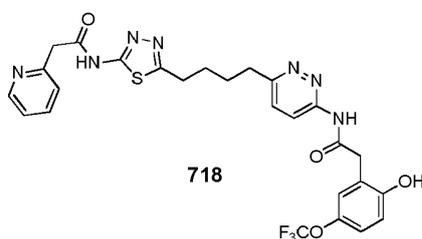
20 El compuesto 720 se preparó utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.66 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 8.19-8.16 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.79-7.76 (m, 1H), 7.59-7.30 (m, 6H), 4.01 (s, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).



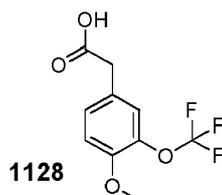
25 El compuesto 721 se preparó utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.66 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.51-8.50 (m, 1H), 8.21-8.16 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.81-7.28 (m, 7H), 4.01 (s, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).



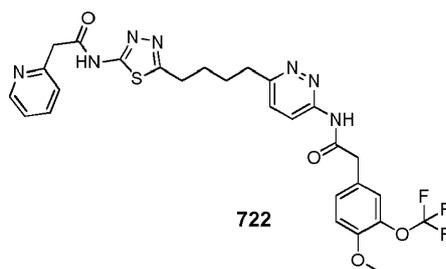
El compuesto 717 se preparó utilizando un procedimiento análogo al empleado para la preparación del compuesto 670. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.66 (s, 1H), 11.17 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.19-8.16 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.42-7.09 (m, 4H), 7.08-7.06 (d, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).



A una solución de 717 (10 mg, 0.017 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió una solución de tribromuro de boro (1 N en DCM) (2 ml) gota a gota. La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4.5 h, antes de desactivarla mediante la adición de agua (~3 mL). Luego la mezcla se basificó con NaOH 1 N hasta pH 8. La mezcla se repartió entre agua y DCM. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-10% en DCM para proporcionar 718. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.17 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, J= 9.06 Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.51-7.09 (m, 4H), 6.88-6.85 (d, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).



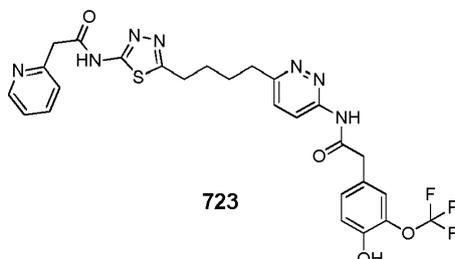
El compuesto 1128 se preparó a partir de 4-bromo-2-trifluorometoxianisol utilizando un procedimiento análogo al del compuesto 1124 más adelante.



25

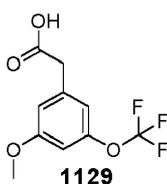
El compuesto 722 se preparó utilizando el compuesto 1128 con un procedimiento análogo al del compuesto 670. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.66 (s, 1H), 11.17 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.42-7.19 (m, 5H), 4.0 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).

5



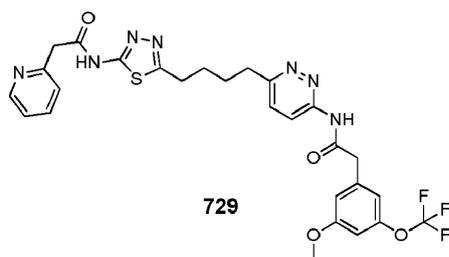
El compuesto 723 se preparó a partir del compuesto 722 utilizando un procedimiento análogo al de la preparación del compuesto 718 anterior. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.66 (s, 1H), 11.17 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.42-7.19 (m, 4H), 6.99-6.96 (d, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).

10



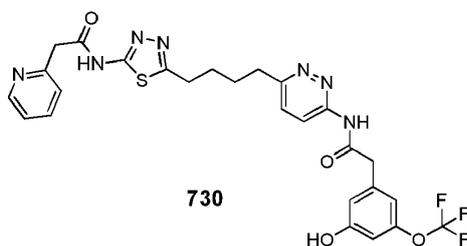
El compuesto 1129 se preparó a partir de 3-bromo-5-trifluorometoxianisol utilizando un procedimiento análogo al del compuesto 1126 más adelante.

15



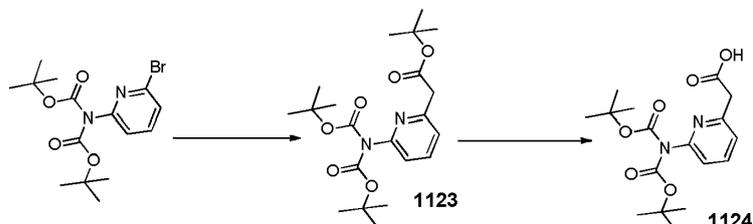
El compuesto 729 se preparó utilizando el compuesto 1129 con un procedimiento análogo al del compuesto 670. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.66 (s, 1H), 11.28 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.42-7.29 (m, 2H), 6.99-6.95 (m, 2H), 6.84 (s, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.80 (m, 5H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).

20



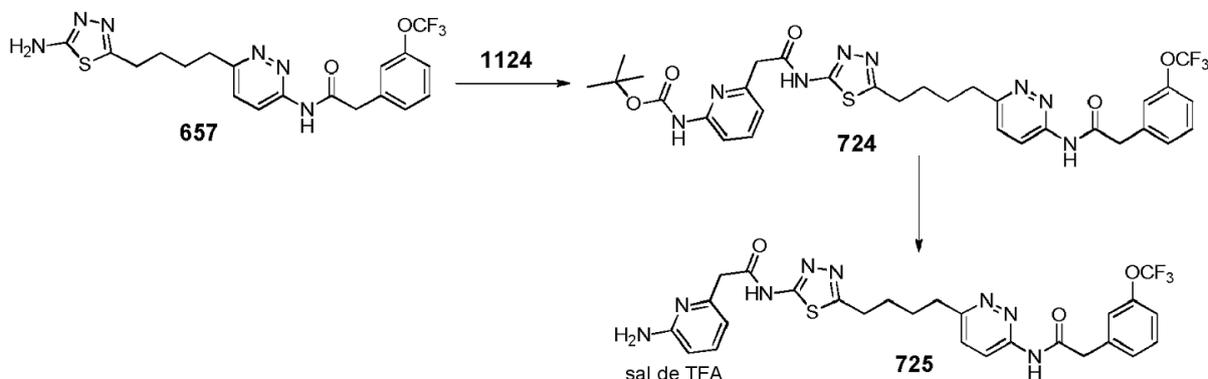
25

5 El compuesto 730 se preparó a partir del compuesto 729 utilizando un procedimiento análogo al de la preparación del compuesto 718 anterior. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.66 (s, 1H), 11.28 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.21-8.18 (d, $J=9.06$ Hz, 1H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.58-7.55 (d, 1H), 7.42-7.29 (m, 2H), 6.81-6.78 (m, 2H), 6.61 (s, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.74 (m, 2H), 3.03 (bs, 2H), 2.91 (bs, 2H), 1.76 (bs, 4H).

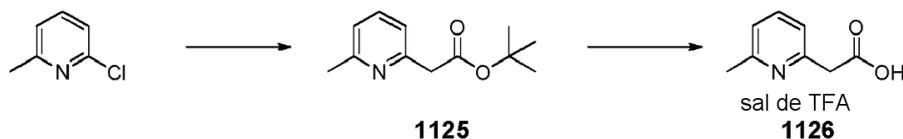


10 A una mezcla de 6-(di-Boc-amino)-2-bromopiridina (1 g, 2.9 mmol), bis(tri-tert-butilfosfina)paladio (0) (300 mg, 0.59 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) bajo atmósfera de argón se añadió una concentración 0.5 M de cloruro de 2-tert-butoxi-2-oxoetilzinc en éter (15 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se repartió entre NH_4Cl saturado y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-20% en hexano para proporcionar 1123.

15 A una solución de 1123 (150 mg, 0.37 mmol) en MeOH (6 ml) y agua (2 ml) a 0 °C se añadió hidróxido de litio monohidratado (100 mg, 2.38 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 días antes de evaporarla a sequedad. Luego la mezcla se acidificó con HCl 1 N (pH 4) y se repartió entre agua y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para proporcionar 1124.

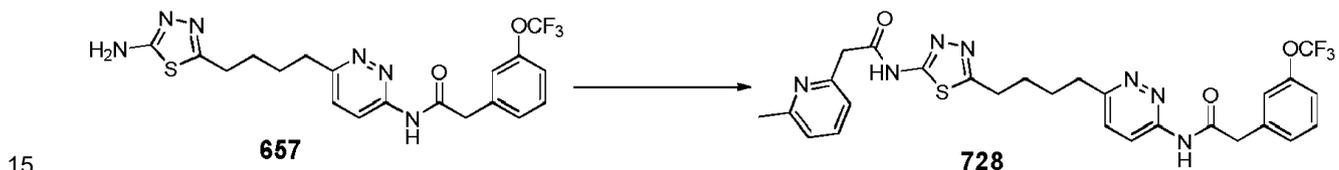


20 Un matraz se cargó con 657 (105 mg, 0.232 mmol), 1124 (90 mg, 0.255 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C, se añadió una solución de anhídrido propilfosfónico (300 μl) y luego trietilamina (89 μl , 0.64 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h antes de desactivarla mediante la adición de agua-hielo (~5 mL). El precipitado se recogió mediante filtración por succión y se lavó con más agua. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-6% en DCM para proporcionar 724. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.67 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J=9.12$ Hz, 1H), 7.72-7.01 (m, 8H), 3.91-3.87 (d, 4H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.75 (bs, 4H) 1.47 (s, 9H). A una solución de 724 (50 mg, 0.07 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió TFA (3 ml) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h antes de evaporarla a sequedad, luego el residuo se lavó disgregándolo con éter para proporcionar 725. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.67 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, $J=9.12$ Hz, 1H), 7.88-7.77 (m, 3H), 7.59-7.26 (m, 5H), 6.90-6.80 (m, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.75 (bs, 4H).

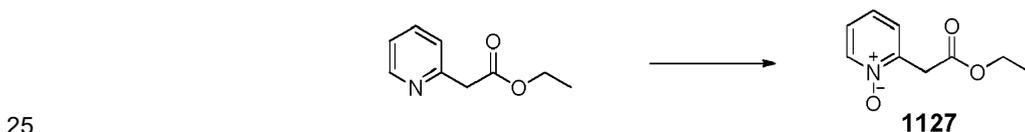


5 A una solución agitada de acetato de tert-butilo (789 μ l, 5.88 mmol), 2-cloro-6-metilpiridina (428 μ l, 3.92 mmol), cloro(2-di-t-butilfosfino-2',4',6'-tri-1-propil-1,1'-bi-fenil)[2-(2-aminoetil)fenil]paladio (II) (27 mg, 0.039 mmol) en tolueno (10 ml) a 0 °C bajo atmósfera de argón se añadió una solución de LHMDS (1 M en tolueno) (12 ml, 12 mmol) enfrida previamente hasta 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h. La mezcla se repartió entre NH_4Cl saturado y EtOAc. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-15% en hexano para proporcionar 1125.

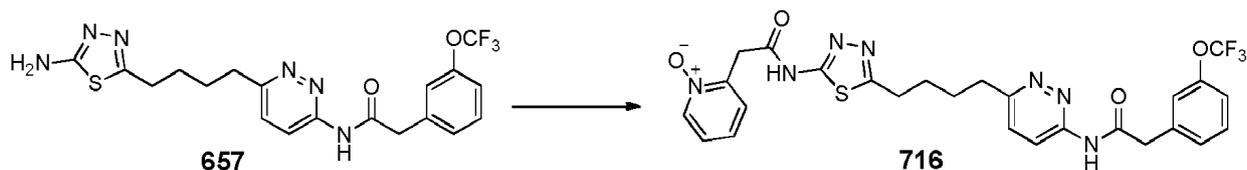
10 A una solución de 1125 (267 mg, 1.29 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió TFA (1.5 ml) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche antes de evaporarla a sequedad, luego se lavó el residuo disgregándolo con éter para proporcionar 1126.



20 Un matraz se cargó con 657 (50 mg, 0.111 mmol), 1126 (35 mg, 0.133 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C, se añadió una solución de anhídrido propilfosfónico (155 μ l) y luego trietilamina (57 μ l, 0.4 mmol). La mezcla resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h, antes de desactivarla mediante la adición de agua-hielo (~5 mL). El precipitado se recogió mediante filtración por succión y se lavó con más agua. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-6% en DCM para proporcionar 728. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.67 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.22-8.19 (d, J = 9.12 Hz, 1H), 7.69-7.15 (m, 8H), 3.96 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 2.52 (s, 3H), 1.75 (bs, 4H).



30 A una solución de 2-piridilacetato de etilo (1 g, 6.05 mmol) en DCM (20 ml) a 0 °C se añadió MCPBA (77% máx.) (1.77 g, 10.2 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente durante 3 h antes de repartirla entre bicarbonato de sodio saturado y DCM. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-12% en EtOAc para proporcionar 1127.



A una suspensión de 657 (331 mg, 0.73 mmol) en tolueno se añadió 1127 (278 mg, 1.53 mmol) y luego trimetilamonio (2 M en tolueno) (732 μ l, 1.46 mmol). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante la noche. La mezcla de reacción se repartió entre agua y DCM. El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-5% en DCM, luego MeOH al 0-15% en EtOAc para proporcionar 716. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.67 (s, 1H), 11.32 (s, 1H), 8.29-8.27 (m, 1H), 8.21-8.19 (d, $J = 9.12$ Hz, 1H), 7.61-7.26 (m, 8H), 4.03 (s, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.01 (bs, 2H), 2.90 (bs, 2H), 1.75 (bs, 4H).

Ejemplo 2: Ensayos de compuestos

Los compuestos se ensayaron tanto en un ensayo bioquímico in vitro como en un ensayo de proliferación celular como sigue. Los resultados de IC50 se proporcionan en la Tabla 2.

Ensayo de enzima recombinante

Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad enzimática de una forma recombinante de glutaminasa 1 (GAC) utilizando un ensayo bioquímico que combina la producción de glutamato (liberado por GAC) con glutamato deshidrogenasa (GDH) y midiendo el cambio en la absorbancia para reducción de NAD^+ a NADH. Se preparó una solución de sustrato (Tris-HCl 50 mM, pH 8.0, EDTA 0.2 mM, K_2HPO_4 150 mM, BSA 0.1 mg/ml, DTT 1 mM, L-glutamina 20 mM, NAD^+ 2 mM y antiespumante 10 ppm) y se añadieron 50 μ L a una placa transparente de media área de 96 pocillos (Corning # 3695). Se añadió el compuesto (2 μ l) para dar una concentración final de DMSO del 2% a 2X la concentración deseada del compuesto. La reacción enzimática se inició con la adición de 50 μ L de solución enzimática (Tris-HCl 50 mM pH 8.0, EDTA 0.2 mM, K_2HPO_4 150 mM, BSA 0.1 mg/ml, DTT 1 mM, antiespumante 10 ppm, 4 unidades/ml GDH, difosfato de adenosina 4 mM y GAC 4 nM) y se lee en un lector de placas Molecular Devices M5 a 20 °C. El lector de placas se configuró para leer la absorbancia ($\lambda = 340$ nm) en modo cinético durante 15 minutos. Los datos se registraron como unidades de mili-absorbancia por minuto y las pendientes se compararon con un compuesto de control y un control de solo DMSO en la misma placa. Los compuestos con pendientes menores que el control DMSO se consideraron inhibidores y la variabilidad de la placa se evaluó utilizando el compuesto de control.

Los resultados de este ensayo para varios compuestos de la invención se muestran en la Tabla 2, expresada como IC50, o la mitad de la concentración inhibitoria máxima, en donde IC50 es una medida cuantitativa que indica cuánto compuesto se necesita para inhibir una actividad biológica dada a la mitad.

Ensayo de enzimas recombinantes - Dependencia del tiempo

Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad enzimática de una forma recombinante de glutaminasa 1 (GAC) utilizando un ensayo bioquímico que combina la producción de glutamato (liberado por GAC) con glutamato deshidrogenasa (GDH) y midiendo el cambio en la absorbancia para reducción de NAD^+ a NADH. Se preparó una solución enzimática (Tris-HCl 50 mM pH 8.0, EDTA 0.2 mM, K_2HPO_4 150 mM, BSA 0.1 mg/ml, DTT 1 mM, antiespumante 10 ppm, 4 unidades/ml GDH, difosfato de adenosina 4 mM y GAC 4 nM) y 50 μ L añadidos a una placa transparente de media área de 96 pocillos (Corning # 3695). Se añadió el compuesto (2 μ l) para dar una concentración final de DMSO del 2% a 2X la concentración deseada del compuesto. La mezcla enzima/compuesto se selló con una lámina de sellado (USA Scientific) y se dejó incubar, con agitación suave, durante 60 minutos a 20 °C. La reacción enzimática se inició con la adición de 50 μ L de solución de sustrato (Tris-HCl 50 mM pH 8.0, EDTA 0.2 mM, K_2HPO_4 150 mM, BSA 0.1 mg/ml, DTT 1 mM, L-glutamina 20 mM, NAD^+ 2 mM, y 10 ppm antiespumante) y se lee en un lector de placas Molecular Devices M5 a 20 °C. El lector de placas se configuró para leer la absorbancia ($\lambda = 340$ nm) en modo cinético durante 15 minutos. Los datos se registraron como unidades de mili-absorbancia por minuto y las pendientes se compararon con un compuesto de control y un control de solo DMSO en la misma placa. Los compuestos con pendientes menores que el control DMSO se consideraron inhibidores y la variabilidad de la placa se evaluó utilizando el compuesto de control.

Los resultados de este ensayo para varios compuestos se muestran en la Tabla 2, expresada como IC50, o la mitad de la concentración inhibitoria máxima, en donde IC50 es una medida cuantitativa que indica cuánto compuesto se necesita para inhibir una actividad biológica dada a la mitad.

Ensayo de proliferación celular

Las células P493-6 (myc "on") se mantuvieron en medios de crecimiento (RPMI-1640, FBS al 10%, glutamina 2 mM, penicilina 100 unidades/ml y estreptomycin 100 μ g/ml) a 37 °C con 5% de CO_2 . Para el ensayo del compuesto, las células P493-6 se sembraron en placas con fondo en V de 96 pocillos el día de la adición del compuesto en 50 μ l de medio de crecimiento a una densidad celular de 200,000 células/ml (10,000 células/pocillo). Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO al 100% a 200 veces la concentración final. Los compuestos se diluyeron 100 veces en medios de crecimiento y luego se añadieron 50 μ l de esta mezcla a las placas celulares, haciendo que la concentración final de DMSO sea 0.5%. Las células se incubaron con compuesto durante 72 horas a 37 °C con 5% de CO_2 y se analizaron para determinar los efectos antiproliferativos mediante Cell Titer Glo (Promega) o análisis FACS usando el kit Viacount (Millipore) en el instrumento Guava.

Los resultados de este ensayo para varios compuestos se muestran en la Tabla 2, expresada como IC50, o la mitad de la concentración inhibitoria máxima, en donde IC50 es una medida cuantitativa que indica cuánto compuesto se necesita para inhibir una actividad biológica dada a la mitad.

Ensayo modificado de enzimas recombinantes - Dependencia del tiempo

- 5 Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad enzimática de una forma recombinante de glutaminasa utilizando un ensayo bioquímico que combina la producción de Glu (liberado por la glutaminasa) con GDH y mide el incremento en la fluorescencia debido a la reducción de NADP⁺ a NADPH.

10 Configuración del ensayo: se preparó un tampón de reacción de glutaminasa [Tris-HCl 50 mM pH 8.8, K₂HPO₄ 150 mM, EDTA 0.25 mM, BSA 0.1 mg/ml (Calbiochem n.º 2960), DTT 1 mM, NADP⁺ 2 mM (Sigma Aldrich n.º N5755) y TX-100 al 0.01%] y se utilizó para preparar una solución que contiene enzima x3, solución que contiene sustrato x3 y solución que contiene inhibidor x3 (véase más adelante). La solución que contiene inhibidor se preparó diluyendo patrones en DMSO de los compuestos en el tampón de reacción de glutaminasa para crear una solución de inhibidor x3 que contiene un 6% de DMSO. La solución que contiene enzima x3 se preparó diluyendo glutaminasa recombinante y GDH de especie *Proteus* (Sigma Aldrich n.º G4387) en tampón de glutaminasa para crear una solución de glutaminasa 6 nM más 18 unidades/mL de GDH. Se preparó una solución que contiene Gln, Glu o NADPH x3 diluyendo un patrón de Gln (Sigma Aldrich n.º 49419), Glu (Sigma Aldrich n.º 49449) o NADPH (Sigma Aldrich n.º N1630) en tampón de reacción de glutaminasa para crear una solución de sustrato x3. Las reacciones se ensamblaron en placas de microtitulación negras de volumen bajo de 384 pocillos (Molecular Devices n.º 0200-5202) mezclando 5 µl de solución que contiene inhibidor con 5 µl de solución que contiene sustrato seguidos de 5 µl de solución que contiene enzima cuando no se requiere incubación previa. Cuando se evaluaron los efectos dependientes del tiempo de la inhibición del compuesto, la solución que contiene enzima se trató con solución que contiene inhibidor durante el tiempo indicado antes de la adición de la solución que contiene sustrato.

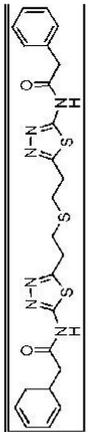
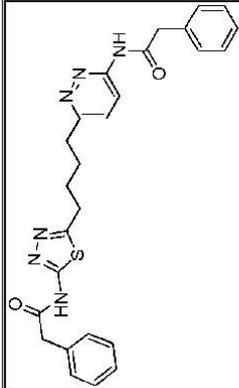
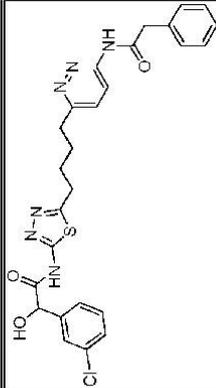
25 Medición de la actividad glutaminasa: tras la mezcla de los tres componentes, se registró el incremento de fluorescencia (Ex: 340 nM, Em: 460 nm) durante 15 min a temperatura ambiente utilizando un instrumento Spectromax M5e (Molecular Devices).

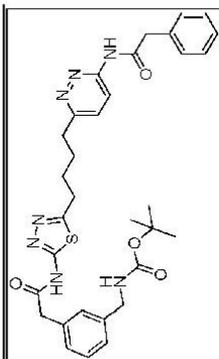
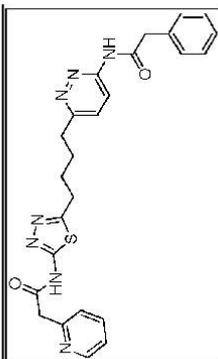
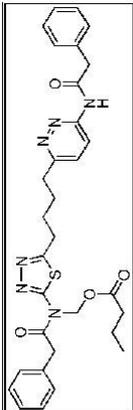
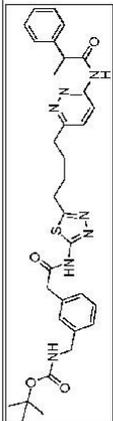
Determinación de IC50: las velocidades iniciales de cada curva de evolución se calcularon utilizando una ecuación de línea recta ($Y = \text{intersección de las } Y + (\text{pendiente}) \cdot X$). Los valores de la velocidad inicial se representaron en una gráfica frente a la concentración del compuesto y se ajustaron a una ecuación de respuesta-dosis de cuatro parámetros ($\% \text{ de actividad} = \text{inferior} + (\text{superior-inferior}) / (1 + 10^{((\text{LogIC50}-X) \cdot \text{pendiente de Hill}))})$) para calcular el valor de IC50.

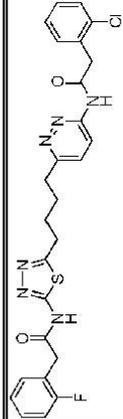
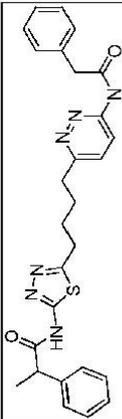
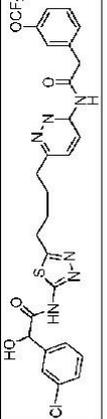
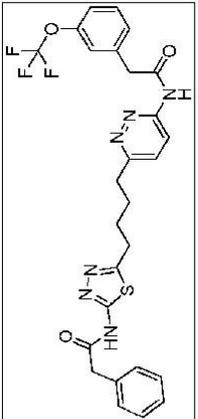
- 30 Los resultados de este ensayo para varios compuestos se muestran en la Tabla 2, expresados como IC50 o concentración inhibitoria semimáxima, en donde IC50 es una medida cuantitativa que indica cuánto compuesto es necesario para inhibir una actividad biológica dada por la mitad.

Los compuestos marcados con un asterisco (*) se incluyen con fines de referencia.

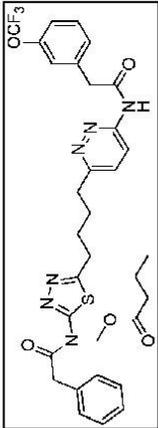
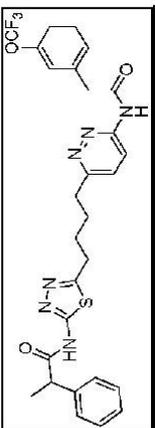
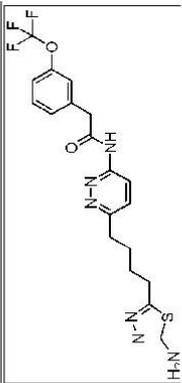
Tabla 2

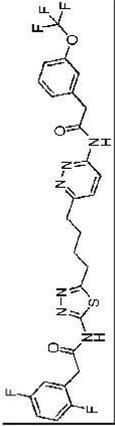
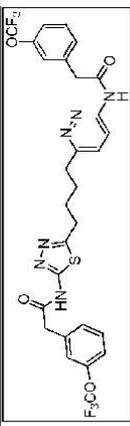
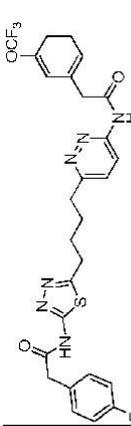
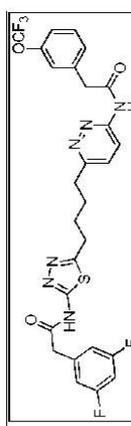
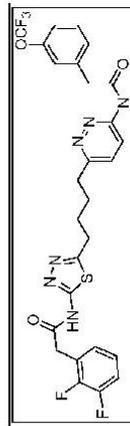
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
1*			0.10	0.20	0.47
295*			0.01	0.057	0.039
318*			0.006	0.18	0.017

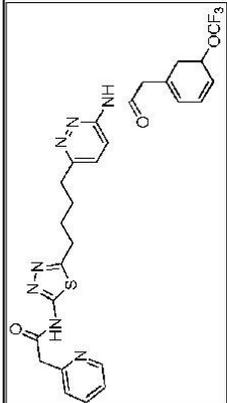
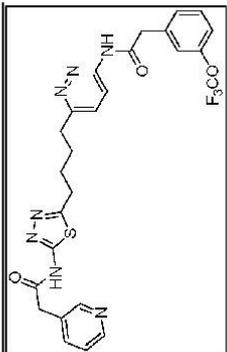
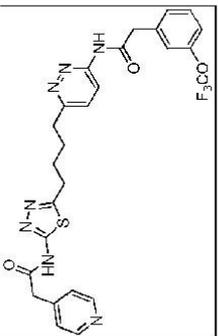
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
339 *		0.005	0.16	0.009	
354 *			0.10	0.047	
402 *		1.1		0.054	
436 *		0.006		0.010	

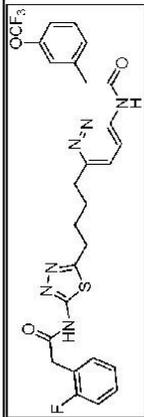
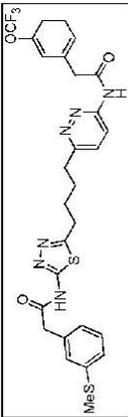
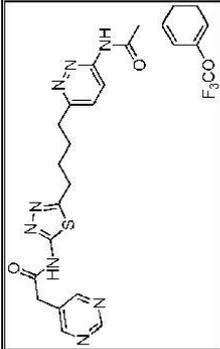
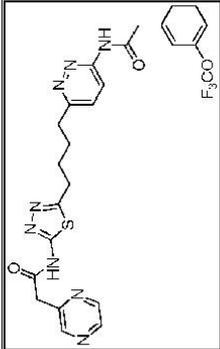
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
533 *		0.007	0.007	0.041	0.041
616 *		0.008	0.008	0.13	0.13
447 *		0.005	0.005	0.016	0.016
585 *		0.006	0.006	0.070	0.070

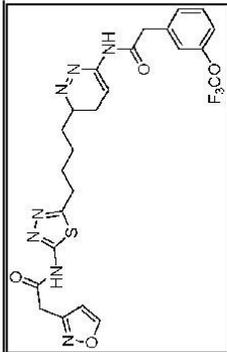
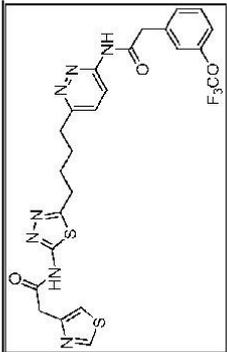
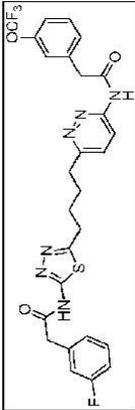
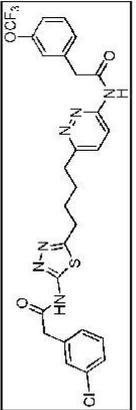
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
586 *		0.013	0.031		
600 *		0.005	0.008		
614 *		0.008	0.082		
615 *		0.009	0.12		

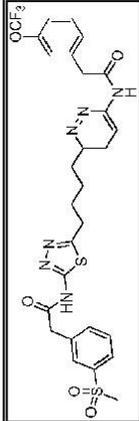
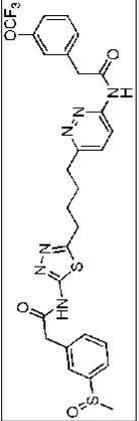
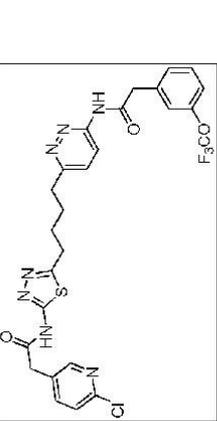
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
629 *		>20	>20	>20	0.065
636 *		0.008	0.008	0.008	0.059
657		0.24	0.24	0.24	1.5
658		0.005	0.005	0.005	0.040

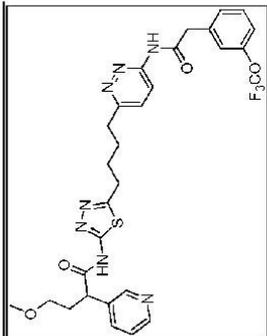
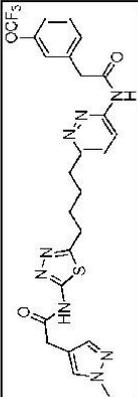
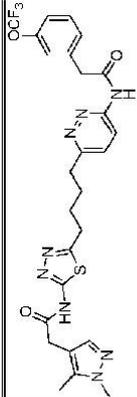
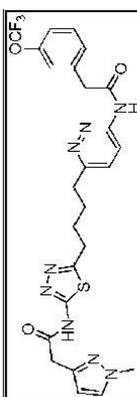
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
659			0.010		0.058
660			0.025		0.037
661			0.007		0.12
662			0.007		0.055
663			0.007		0.089

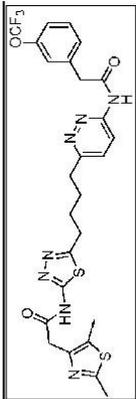
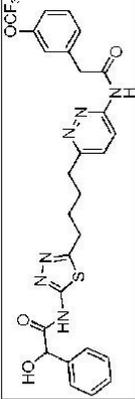
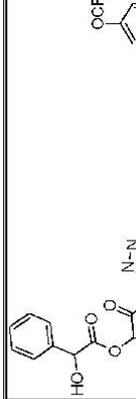
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
670		0.005	0.005	0.030	0.030
671		0.004	0.004	0.035	0.035
672		0.010	0.010	0.045	0.045

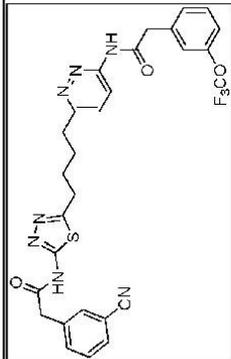
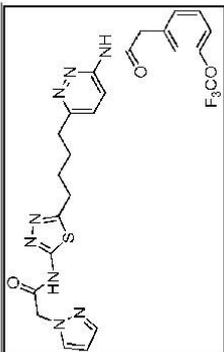
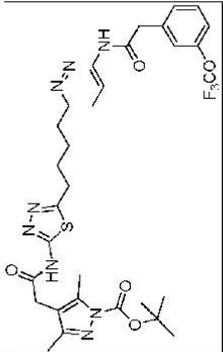
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
673		0.006	0.006	0.033	0.033
674		0.008	0.008	0.024	0.024
675				0.040	0.040
676				0.030	0.030

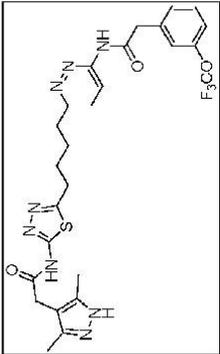
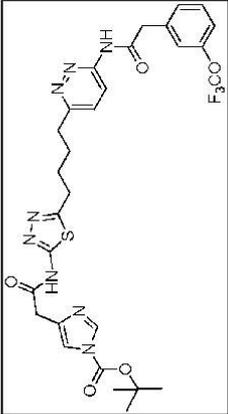
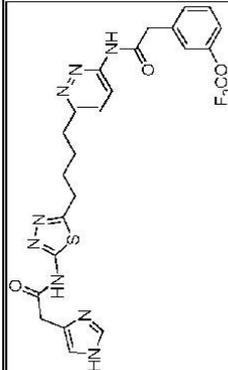
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
677					0.056
678					0.026
679					0.036
680					0.033

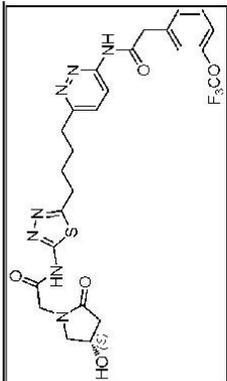
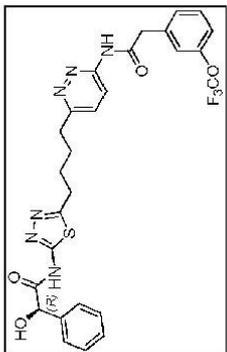
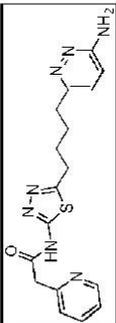
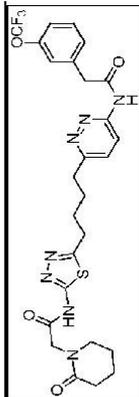
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
681					0.019
682					0.017
683					0.024

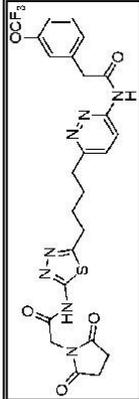
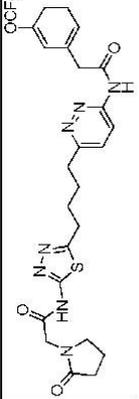
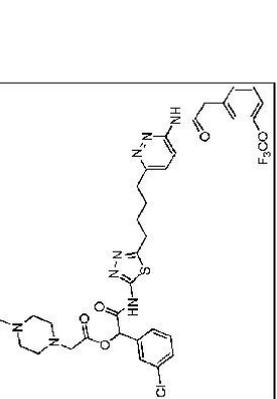
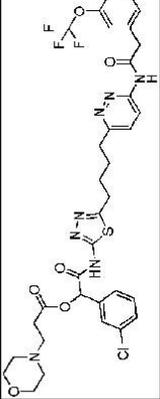
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
684					0.042
685 *					0.022
686 *					0.010
687 *					0.011

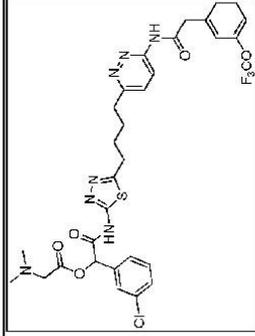
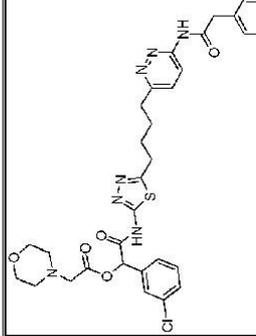
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
688 *					0.012
689					0.013
690 *					0.017

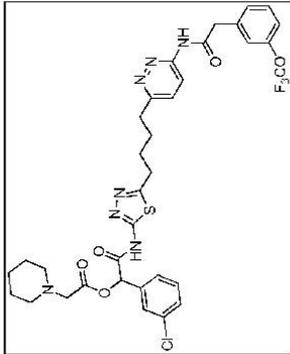
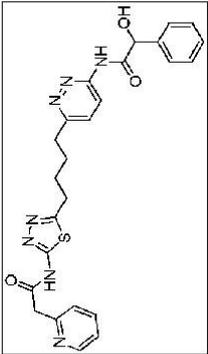
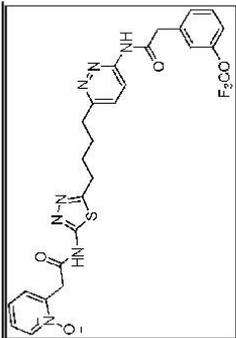
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
692					0.020
693					0.070
694 *					0.029

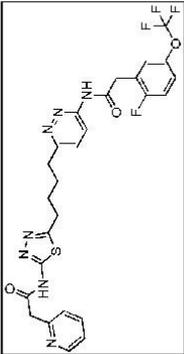
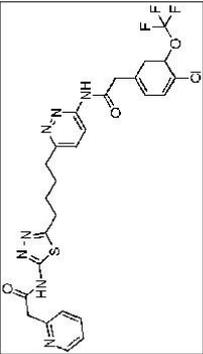
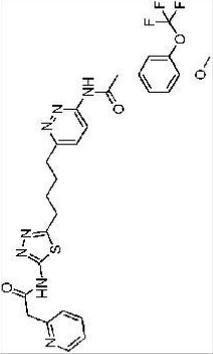
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
695 *					0.030
696					0.034
697					0.050

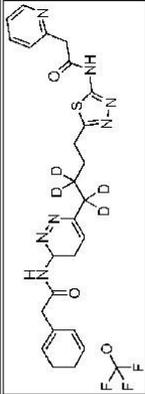
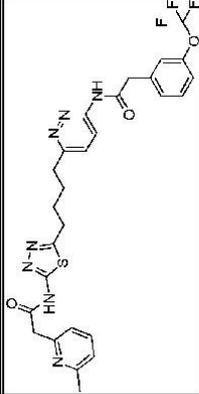
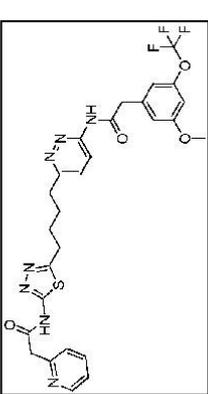
ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
704					0.88
705					0.032
706 *					14
707					0.085

ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
708					2.8
709					0.14
710 *					
711 *					

ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
712 *	 <p>The chemical structure of compound 712 features a central 1,2,4-triazole ring. At the 1-position, there is a 4-chlorophenyl group. At the 3-position, there is a 4-(trifluoromethyl)phenyl group. At the 4-position, there is a 4-(trifluoromethyl)phenyl group. A 4-(trifluoromethyl)phenyl group is also attached to the 5-position of the triazole ring. The triazole ring is connected via a methylene group to a 4-(trifluoromethyl)phenyl group.</p>				
713 *	 <p>The chemical structure of compound 713 is similar to compound 712, but it features a morpholine ring instead of a methyl group at the 1-position of the triazole ring. The rest of the structure, including the 4-chlorophenyl and 4-(trifluoromethyl)phenyl groups, remains the same.</p>				

ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
714 *					
715 *		0.19			0.39
716 *					0.18

ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
720		0.020			0.92
721		0.016			0.022
722		0.024			0.016

ID de comp.	Estructura	GAC Delta N2 modificada IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 60 min de preinc (µM)	GAC Delta N2 IC50 sin preinc (µM)	Prolif. celular P493 72h IC50 (µM)
727 *		0.023			0.012
728 *		0.012			0.018
729		0.016			0.026

Ejemplo 3: Ensayo de permeabilidad de Caco-2

Las células Caco-2 se usan comúnmente en una monocapa confluyente en un filtro de inserción de cultivo celular. Cuando se cultivan en este formato y bajo condiciones específicas, las células se diferencian y polarizan de manera que su fenotipo, morfológica y funcionalmente se asemeja a los enterocitos que recubren el intestino delgado. La monocapa celular proporciona una barrera física y bioquímica al paso de moléculas pequeñas, y se usa ampliamente en la industria farmacéutica como un modelo in vitro de la mucosa del intestino delgado humano para predecir la absorción de medicamentos administrados por vía oral (Hidalgo et al., Gastroenterology, 1989; Artursson, J. Pharm. Sci., 1990). La correlación entre la permeabilidad aparente in vitro (P_{app}) a través de monocapas de Caco-2 y la absorción in vivo está bien establecida (Artursson et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 1991).

- 5 El presente ensayo se usó para determinar la permeabilidad bidireccional de los compuestos de la invención a través de monocapas de células Caco-2. Las células Caco-2 se cultivaron en monocapas confluentes donde los medios de los lados apical (A) y basolateral (B) estaban a pH 7,4. Los compuestos se dosificaron a 1 μM en presencia de amarillo Lucifer 200 μM , en el lado apical ($A \rightarrow B$) o el lado basolateral ($B \rightarrow A$) para evaluación, por duplicado. Se tomaron muestras de los lados A y B después de 120 minutos de exposición, y se determinó la concentración del compuesto (informada como porcentaje de recuperación) usando un método genérico LC-MS/MS con una curva de calibración mínima de cuatro puntos.
- 10
- 15

El potencial de absorción de los compuestos se clasificaron como bajo ($P_{app} < 1 \times 10^{-6}$ cm/s) o alto ($P_{app} > 1 \times 10^{-6}$ cm/s). La relación de eflujo se calculó como $(P_{app} B \rightarrow A) / (P_{app} A \rightarrow B)$, siendo las relaciones de eflujo significativas cuando mayor o igual a 3 cuando la $P_{app} (B \rightarrow A)$ fue mayor o igual a 1×10^{-6} cm/s. Los resultados para ciertos compuestos de la invención se muestran en la Tabla 3.

20

Tabla 3: Resultados de permeabilidad de Caco-2

Comp.	Dirección	Recuperación (%)	P_{app} (prom.)	Relación de eflujo	Clasificación de permeabilidad	Eflujo significativo
533*	A→B	41	4.94	7.6	Alto	Sí
	B→A	52	37.5			
585*	A→B	42	7.52	3.1	Alto	Sí
	B→A	53	23.4			
616*	A→B	65	8.23	6.0	Alto	Sí
	B→A	76	49.5			
295*	A→B	89	8.17	7.3	Alto	Sí
	B→A	96	59.8			
318*	A→B	73	2.45	18	Alto	Sí
	B→A	82	44.5			
339*	A→B	73	2.39	17	Alto	Sí
	B→A	80	41.6			
354*	A→B	117	1.38	33	Alto	Sí
	B→A	101	45.0			
436*	A→B	44	3.75	6.6	Alto	Sí

Comp.	Dirección	Recuperación (%)	Papp (prom.)	Relación de eflujo	Clasificación de permeabilidad	Eflujo significativo
	B→A	57	24.7			
660	A→B	56	0.61	3.9	Bajo	Sí
	B→A	68	2.37			
670	A→B	70	9.64	6.2	Alto	Sí
	B→A	72	59.6			
679	A→B	34	7.59	2.6	Alto	No
	B→A	42	19.6			
447*	A→B	71	7.76	3.5	Alto	Sí
	B→A	56	27.2			
703	A→B	51	6.26	6.6	Alto	Sí
	B→A	66	41.0			
705	A→B	60	8.52	6.0	Alto	Sí
	B→A	67	51.0			

Ejemplo 4: Solubilidad

Se combinaron porciones de ca. 1 mg del artículo de prueba con 120 µl de disolvente en pocillos de una placa de polipropileno de 96 x 2 ml. La placa se mezcló vigorosamente en vórtex a temperatura ambiente (ca. 20 °C) durante 18 horas y cada pocillo se verificó visualmente en busca de un sólido no disuelto; Los pocillos que no contenían sólidos visibles se cargaron con un artículo de prueba sólido adicional y el vórtex se mezcló otras 6 horas a temperatura ambiente, después de lo cual todos los pocillos mostraron sólidos visibles. Luego se filtró el contenido de todos los pocillos a través de una placa de filtro de GHP de 0.45 µm para producir filtrados transparentes. Se diluyeron 5 µl de cada filtrado en 100 µl de DMF y se mezcló en vórtex para producir muestras de HPLC. Se prepararon estándares de cuantificación duplicados para cada artículo de prueba diluyendo porciones pesadas de artículo de prueba sólido en volúmenes medidos de DMF. Se analizaron 2 µl de cada muestra de HPLC y estándar de cuantificación por HPLC usando el método descrito en la Tabla 4. Las concentraciones de artículo de prueba disuelto se calcularon por la relación de área pico frente a los estándares de cuantificación apropiados. Los resultados de solubilidad se presentan en la Tabla 5.

15

Tabla 4: Delineación del método de HPLC

Instrumento	Shimadzu Prominence UFLC con detector de UV/Vis de matriz de diodos	
Columna	VWR Sonoma C8(2), 3.5 µm, 2.1 x 50 mm	
Temp. de columna	40°C	
Fase móvil A	0.1% (v/v) ácido fórmico en agua	
Fase móvil B	0.1% (v/v) ácido fórmico en acetonitrilo	
Tasa de flujo	0.4 mL/min	
Gradiente	Tiempo (min)	% de fase móvil B
	0	20
	8	100
	8.5	100
	8.6	20
	9.6	END

Tabla 5: solubilidades medidas

Solvente	Solubilidad (mg/mL)			
	1*	295*	402*	585*
agua	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
0.9% NaCl	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
0.1 M HCl	< 0.002	0.003	< 0.004	< 0.002
50 mM Cit pH 2.3	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
50 mM Cit pH 3.3	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
50 mM Cit pH 4.4	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
50 mM Cit pH 5.4	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
PBS	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.002
0.1 M NaOH	14.420	0.268	< 0.004	0.192
10% PS80/50 mM cit	0.050	0.027	0.153	0.261

ES 2 899 461 T3

10% CrEL/50 mM cit	0.076	0.055	0.157	0.228
Solvente	Solubilidad (mg/mL)			
	1*	295*	402*	585*
20% SBECD/50 mM cit	0.046	0.090	0.019	0.125
20% HPBCD/50 mM cit	0.042	0.167	0.056	0.327
Labrasol	0.258	0.918	31.032	5.004
Capryol PGMC	0.042	1.540	11.210	1.780
Capryol 90	0.081	0.215	13.676	1.744
Aceite de canola	< 0.002	< 0.002	0.529	0.072
PEG400	0.451	1.644	30.179	3.944
PG	0.048	0.234	1.365	1.422
EtOH	0.040	0.083	2.958	1.991
Solvente	Solubilidad (mg/mL)			
	670	447*	703	
agua	0.007	< 0.004	< 0.004	
0.9% NaCl	< 0.002	0.005	< 0.004	
0.1 M HCl	0.005	< 0.004	< 0.004	
50 mM Cit pH 2.3	0.066	< 0.004	< 0.004	
50 mM Cit pH 3.3	0.003	< 0.004	< 0.004	
50 mM Cit pH 4.4	< 0.002	< 0.004	< 0.004	
50 mM Cit pH 5.4	< 0.002	< 0.004	< 0.004	
PBS	< 0.002	< 0.004	< 0.004	
0.1 M NaOH	0.227	0.192	0.656	
10% PS80/50 mM cit	1.204	0.851	0.378	
10% CrEL/50 mM cit	0.458	0.732	0.309	
20% SBECD/50 mM cit	5.256	2.718	0.476	
20% HPBCD/50 mM cit	9.685	2.177	0.651	

Solvente	Solubilidad (mg/mL)			
	670	447*	703	
Labrasol	5.042	77.164	20.727	
Capryol PGMC	1.519	7.916	3.683	
Capryol 90	1.974	11.114	7.409	
Aceite de canola	0.012	0.071	0.014	
PEG400	9.901	57.334	22.419	
PG	2.569	8.265	4.698	
EtOH	0.964	3.921	2.645	

Ejemplo 5: Estudios farmacocinéticos

5 Para los estudios PK llevados a cabo en ratones, se administraron dosis por vía oral mediante sonda (volumen de 10 mL/kg) de los compuestos de prueba a ratones, ratones CD-1 hembra, de 5-8 semanas de edad. En puntos de evaluación predeterminados (por ejemplo, 1, 3 y 6 h) después de la dosis, se sacrificaron grupos de tres ratones mediante inhalación de CO₂ y se tomaron muestras de sangre mediante una punción cardíaca. Las muestras de sangre se colocaron en tubos recubiertos de K₂EDTA y se mantuvieron en hielo. Las muestras se centrifugaron a 2000 x g durante 10 minutos a 4 °C y se aisló el plasma. El plasma se almacenó a -70 °C hasta que se realizó el análisis bioanalítico. Las Figuras 1 y 2 muestran la concentración en plasma de los compuestos 585, 295, 447 y 318 en función del tiempo tras la administración oral de 50 mg/kg a ratones CD-1 hembra.

15 Para los estudios PK llevados a cabo en ratas, se administraron dosis por vía oral mediante sonda (5-10 mL/kg) de los compuestos de prueba a ratas, grupos de tres ratas Sprague-Dawley hembra de 7-10 semanas de edad, con una cánula en la vena yugular. Se tomaron muestras de sangre en serie mediante la cánula de la vena yugular en múltiples puntos de evaluación antes y después de la dosis. Las muestras de sangre se colocaron en tubos recubiertos de K₂EDTA y se mantuvieron en hielo. Las muestras se centrifugaron a 2500 x g durante 10 minutos a 4 °C y se aisló el plasma. El plasma se almacenó a -70 °C hasta que se realizó el análisis bioanalítico. La Figura 3 muestra la concentración en plasma del compuesto 670 en función del tiempo tras la administración oral de 500, 250, 80 y 25 mg/kg en hidroxipropil-β-ciclodextrina al 25% (formulación de HPBCD) a ratas Sprague Dawley hembra.

20 En la Tabla 6 se muestran los resultados de varios estudios. Las muestras de plasma se analizaron utilizando métodos de cromatografía líquida tándem espectrometría de masas (LC/MS/MS). Las muestras de plasma congeladas se descongelaron en hielo o a temperatura ambiente. Las alícuotas de las muestras de plasma de estudio y las muestras de calibración preparadas en la misma matriz que las muestras de estudio se desactivaron en un disolvente orgánico (metanol, acetonitrilo o DMF) que contenía un patrón interno. Luego las mezclas se centrifugaron y se filtraron y los filtrados se inyectaron en un sistema de LC/MS/MS para determinar las concentraciones de los compuestos de prueba.

25 **Tabla 6: Estudios farmacocinéticos y resultados**

Cmp	Dosis (mg/kg)	Especie	Vehículo	Solución/ Suspensión	Puntos de evaluación (h)	C _{máx} (uM)	T _{máx} (h)
295*	50	Ratón	Dispersión sólida de Eudragit L100-55	Suspensión	1, 6	0.02	6

Cmp	Dosis (mg/kg)	Especie	Vehículo	Solución/ Suspensión	Puntos de evaluación (h)	C _{máx} (μ M)	T _{máx} (h)
585*	50	Ratón	Dispersión sólida de Eudragit L100-55	Suspensión	0.5, 1, 3, 6	0.93	3
585*	50	Ratón	1% NMP/ 99% Gelucire	Solución	0.5, 1, 3, 6	5.16	1
585*	50	Rata	Dispersión sólida de Eudragit L100-55	Suspensión	0.5, 1, 2, 4, 8, 24	1.15	2
670	25	Rata	20% HPBCD / 10mM Citrato pH 2.0	Solución	pre, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24	4.4	1
670	80	Rata	65% HPBCD/ 10mM Citrato pH 2.6	Solución	pre, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24	12.5	1
670	250	Rata	40% HPBCD/ 10 mM Citrato pH 2.2	Solución	pre, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24	9.9	24
670	500	Rata	40% HPBCD/ 10 mM Citrato pH 2.2	Solución	pre, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24	15.3	2
670	100	Ratón	25% HPBCD/ 10 mM Citrato pH 2.2	Solución	1, 2, 4, 8, 24	5.75	1
670	200	Ratón	25% HPBCD/ 10 mM Citrato pH 2.2	Solución	1, 2, 4, 8, 24	5.05	1
447*	50	Ratón	2% NMP/ 98% Gelucire	Solución	1, 3, 6	1.13	1
318*	50	Ratón	0.5% CMC /0.1% PS80	Suspensión	0.5, 1, 3, 6	0.01	1
318*	50	Ratón	Capryol PGMC	Suspensión	0.5, 1, 3, 6	0.08	3

Ejemplo 6: Estudio de eficacia de xenoinjerto de adenocarcinoma pulmonar

Se implantaron por vía subcutánea 1×10^7 células de adenocarcinoma pulmonar H2122 por ratón suspendidas en PBS a ratones scid/beige hembra (n=20) de 6-8 semanas de edad. Los ratones se distribuyeron de forma aleatoria en los siguientes dos grupos de n=10 ratones/grupo: 1) control de vehículo (hidroxipropil- β -ciclodextrina al 25%) y 2) compuesto 670 administrado por vía oral con una dosis de 200 mg/kg (formulado a 20 mg/mL en HP- β -CD al 25%). Para ambos grupos, la administración se inició 24 horas después del implante y se continuó por vía oral BID durante 23 días. Los tumores se midieron con calibres tres veces a la semana y el volumen del tumor se calculó utilizando la fórmula: volumen del tumor (mm^3) = $(a \times b^2/2)$ donde "b" es el diámetro más pequeño y "a" es el diámetro perpendicular más grande. **Valor de P < 0.01 (prueba t de dos colas). Los resultados se muestran en la Figura 4.

Ejemplo 7: Estudio de xenoinjerto de cáncer de mama triple negativo

Se implantaron por vía subcutánea 1×10^7 células de cáncer de mama triple negativo JIMT-1 por ratón mezcladas 1:1 con Matrigel a ratones CB.17 SCID hembra (n=40) de 8-12 semanas de edad. Cuando los volúmenes de los tumores alcanzaron 100-150 mm^3 , los ratones se distribuyeron de forma aleatoria en los siguientes cuatro grupos de n=10 ratones/grupo: 1) control de vehículo (hidroxipropil- β -ciclodextrina al 25%) administrado por vía oral BID durante 35 días; 2) compuesto 670 administrado por vía oral con una dosis de 200 mg/kg BID durante 35 días (formulado a 20 mg/mL en HP- β -CD al 25%); 3) paclitaxel administrado por vía intravenosa con una dosis de 10 mg/kg cada dos días durante un total de 5 dosis; y 4) compuesto 670 (200 mg/kg por vía oral BID x 35 días) y paclitaxel (10 mg/kg IV qod x 5). Los tumores se midieron con calibres dos veces a la semana y el volumen del tumor se calculó utilizando la fórmula: volumen del tumor (mm^3) = $(a \times b^2/2)$ donde "b" es el diámetro más pequeño y "a" es el diámetro perpendicular más

grande. **Valor de $P < 0.01$ (ANOVA de una vía frente al vehículo). ##Valor de $P < 0.01$ (prueba t de dos colas frente al paclitaxel solo). Los resultados se muestran en la Figura 5.

Ejemplo 8: Estudio de xenoinjerto de mieloma múltiple

5 Se implantaron por vía subcutánea 1×10^7 células de mieloma RPMI-8226 por ratón mezcladas 1:1 con Matrigel a ratones CB.17 SCID hembra ($n=20$) de 8-12 semanas de edad. Los ratones se distribuyeron de forma aleatoria en los siguientes dos grupos de $n=10$ ratones/grupo: 1) control de vehículo (hidroxipropil- β -ciclodextrina al 25%) y 2) compuesto 670 administrado por vía oral con una dosis de 200 mg/kg (formulado a 20 mg/mL en HP- β -CD al 25%). Para ambos grupos, la administración se inició cuando los tumores alcanzaron un volumen de 100-150 mm³ y se continuó por vía oral BID durante 28 días. Los tumores se midieron con calibres dos veces a la semana y el volumen del tumor se calculó utilizando la fórmula: volumen del tumor (mm³) = $(a \times b^2/2)$ donde "b" es el diámetro más pequeño y "a" es el diámetro perpendicular más grande. **Valor de $P < 0.01$ (prueba t de dos colas). Los resultados se muestran en la Figura 6.

Ejemplo 9: Tratamiento de células de mieloma múltiple con una combinación de fármacos

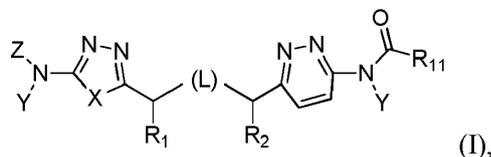
15 Según se muestra en la Figura 7, se trataron células MM1S (paneles A y B) y células RPMI-8226 (paneles C y D) con una titulación de dosis del compuesto 670, pomalidomida o una mezcla de estos (paneles A y C) o compuesto 670, dexametasona o una mezcla de estos (paneles B y D) durante 72 horas en medio de crecimiento. Al final de la incubación, se midió la viabilidad celular utilizando Cell Titer Glo según el protocolo del fabricante (Promega, Madison, WI). Los valores medidos para las células tratadas con el compuesto se normalizaron respecto a las células tratadas con DMSO y los datos se presentan como una relación de supervivencia celular con un valor de 1 (uno) correspondiente a la supervivencia celular máxima y un valor de 0 (cero) correspondiente a una supervivencia celular nula. Las relaciones de supervivencia celular para todos los tratamientos del compuesto se representan como gráficas de barras. Los índices de combinación se calcularon utilizando el programa Calcsyn (biosoft.com) y se presentan para mezclas individuales del compuesto 670 y pomalidomida [POM] (paneles A y C) y mezclas individuales del compuesto 670 y dexametasona [DEX] (paneles B y D). Las mezclas de compuesto que produjeron una actividad antitumoral sinérgica están subrayadas.

Equivalentes

30 Aunque se han analizado realizaciones específicas de la invención en cuestión, la memoria descriptiva anterior es ilustrativa y no restrictiva. Para los expertos en la técnica serán evidentes muchas variaciones de la invención al revisar esta memoria descriptiva y las siguientes reivindicaciones. El alcance completo de la invención se debe determinar haciendo referencia a las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I,



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

L representa CH₂CH₂;

X representa S o CH=CH, en donde cualquier átomo de hidrógeno de una unidad CH puede ser reemplazado por alquilo (C₁-C₁₀);

10

Y, independientemente para cada presencia, representa H o CH₂O(CO)R₇;

R₇, independientemente para cada presencia, representa H o alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), aminoalquilo (C₁-C₁₀), alquilamino(C₁-C₁₀) alquilo (C₁-C₁₀), heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), arilalquilo (C₁-C₁₀), o heterociclil-alcoxi (C₁-C₆) sustituidos o no sustituidos;

Z representa H o R₃(CO);

15

R₁ and R₂ representan cada uno H;

R₃ representa arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), heterocicloalquilo o heterociclilo sustituidos o no sustituidos; o

C(R₈)(R₉)(R₁₀); en donde

R₈ representa arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀),

20

R₉ representa H, y

R₁₀ representa hidroxil, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆) o alcoxi (C₁-C₆) alquilo (C₁-C₁₀);

25

R₁₁ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional, o R₁₁ representa C(R₁₂)(R₁₃)(R₁₄), N(R₄)(R₁₄) u OR₁₄, en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇;

30

R₁₂ y R₁₃ representan cada uno independientemente H o alquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo (C₁-C₁₀), amino, acilamino, aminoalquilo (C₁-C₁₀), acilamino-alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆)-carbonilo, alcoxi (C₁-C₆)-carbonilamino, alqueno, alcoxi (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₁₀), arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquil (C₃-C₈)-alquilo (C₁-C₁₀), heterociclilo, heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde cualquier grupo hidroxilo libre se puede acilar para formar C(O)R₇, y en donde ni R₁₂ ni R₁₃ son H; y

35

R₁₄ representa arilo, aril-alquilo (C₁-C₁₀), ariloxi, ariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo, heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), heteroariloxi o heteroariloxi-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo o heteroarilo está sustituido con -OCHF₂ u -OCF₃ y está opcionalmente sustituido de forma adicional;

en donde cada heterociclilo es un anillo de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

cada heteroarilo es un anillo aromático de 5-7 miembros que tiene al menos 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre; y

40

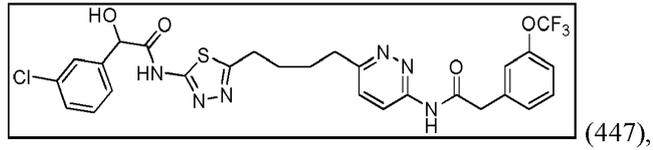
cada arilo es un anillo de arilo de 6 miembros;

en donde, donde se indica, alquilo (C₁-C₁₀), hidroxialquilo(C₁-C₁₀), aminoalquilo(C₁-C₁₀), alquilamino (C₁-C₁₀) alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆) alquilo(C₁-C₁₀), arilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈),

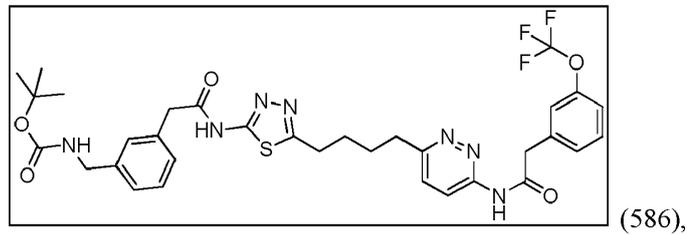
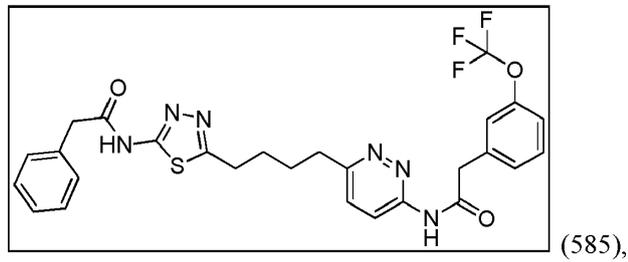
heterociclilo, heterociclil-alquilo (C₁-C₁₀), heterociclil-alcoxi (C₁-C₆), heteroarilo, o heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀) está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, carboxilo, alcoxycarbonilo (C₁-C₆), formilo, acilo, tioéster, tioacetato, tioformiato, alcoxi (C₁-C₆), fosforilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino, amido, amidina, imina, ciano, nitro, azido, sulfhidrilo, alquiltio (C₁-C₁₀), sulfato, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, sulfonilo, heterociclilo, arilalquilo (C₁-C₁₀), arilo y heteroarilo;

5

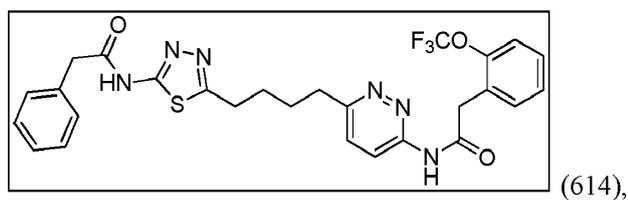
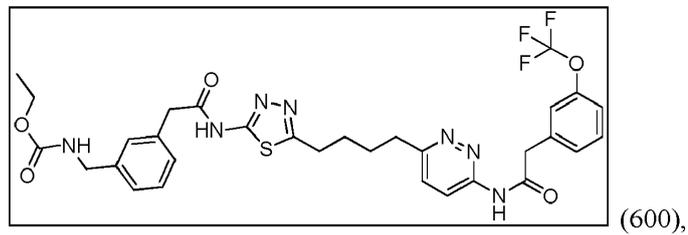
además en donde el compuesto no es uno de los siguientes:

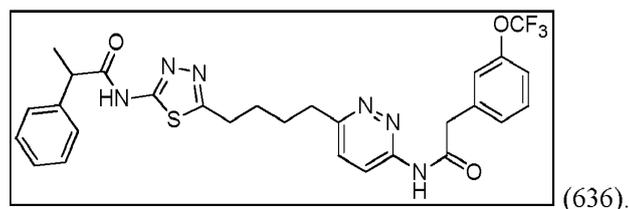
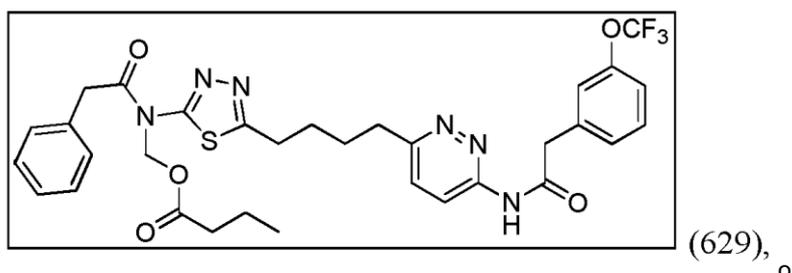
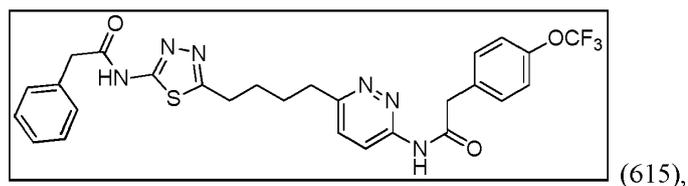


10



15



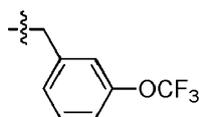


5

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R₁₁ representa aril-alquilo (C₁-C₁₀), en donde el anillo de arilo está sustituido con -OCF₃.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R₁₁ representa trifluorometoxibencilo.

10 4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R₁₁ representa



5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde cada Y representa H.

15 6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde Z representa R₃(CO).

7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R₃ y R₁₁ no son idénticos.

8. El compuesto de la reivindicación 6 u 7, en donde R₃ representa arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈) o heterocicloalquilo sustituido o no sustituido.

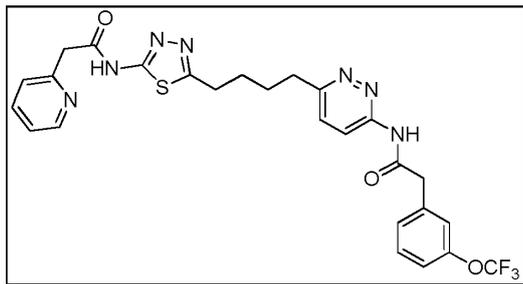
9. El compuesto de la reivindicación 8, en donde R₃ representa heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido.

20 10. El compuesto de la reivindicación 9, en donde R₃ representa piridilalquilo (C₁-C₁₀) sustituido o no sustituido.

11. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde L representa CH₂CH₂, Y representa H, X representa S, Z representa R₃(CO), R₁ y R₂ representan cada uno H, y R₃ representa arilalquilo (C₁-C₁₀), heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈) o heterocicloalquilo.

12. El compuesto de la reivindicación 11, en donde R₃ representa heteroaril-alquilo (C₁-C₁₀).

25 13. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la estructura



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 14. Una composición farmacéutica que comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables y un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.
15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento del cáncer o una enfermedad inmunológica o neurológica.
16. El compuesto para uso de la reivindicación 15, en donde el compuesto es para uso en el tratamiento del cáncer.
- 10 17. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en donde el cáncer se selecciona de leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), carcinoma adrenocortical, cánceres relacionados con el SIDA (sarcoma de Kaposi y linfoma), cáncer anal, cáncer de apéndice, tumor teratoide atípico/rabdoide, carcinoma de células basales, cáncer de conducto biliar (incluido extrahepático), cáncer de vejiga, cáncer de hueso (incluido osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor cerebral (tal como astrocitomas, tumores de cerebro y médula espinal, glioma del tallo cerebral, tumor teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, tumores embrionarios del sistema nervioso central, craneofaringioma, ependimoblastoma, ependimoma, meduloblastoma meduloepitelioma, tumores parenquimatosos pineales de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma), cáncer de mama, tumores bronquiales, linfoma de Burkitt, carcinoma de células basales, cáncer de las vías biliares (incluido el extrahepático), cáncer de vejiga, cáncer de hueso (incluyendo osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor carcinoide, carcinoma de primario desconocido, sistema nervioso central (tal como tumor teratoide/rabdoide atípico, tumores embrionarios y linfoma), cáncer cervical, cánceres infantiles, cordoma, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma cutáneo de células T (micosis fungoide y síndrome de Sézary), conducto, bilis (extrahepático), carcinoma ductal in situ (DCIS), tumores embrionarios (sistema nervioso central), cáncer de endometrio, ependimoblastoma, ependimoma, cáncer de esófago, estesioblastoma, familia de tumores de sarcoma de Ewing, tumor extracraneal de células germinales, tumor de células germinales extragonadal, cáncer de conducto biliar extrahepático, cáncer de ojo (como melanoma intraocular, retinoblastoma), histiocitoma fibroso de hueso (incluyendo malignos y osteosarcoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumores del estroma gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales (extracraneal, extragonadal, ovario), tumor trofoblástico gestacional, glioma, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de corazón, cáncer hepatocelular (hígado), histiocitosis, células de Langerhans, linfoma de Hodgkin, cáncer de hipofaringe, melanoma intraocular, tumores de células de islotes (endocrino, páncreas), sarcoma de Kaposi, riñón (incluida la célula renal), histiocitosis de células de Langerhans, cáncer de laringe, leucemia (incluyendo linfoblástica aguda (ALL), mieloide aguda (AML), linfocítica crónica (CLL), mielógena crónica (CML), células pilosas), cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de hígado (primario), carcinoma in situ lobular (LCIS), cáncer de pulmón (células no pequeñas y células pequeñas), linfoma (relacionado con el SIDA, Burkitt, células T cutáneas (micosis fungoide y síndrome de Sézary), Hodgkin, no Hodgkin, sistema nervioso central primario (SNC), macroglobulinemia, Waldenström, cáncer de mama masculino, histiocitoma fibroso maligno de hueso y osteosarcoma, meduloblastoma, meduloepitelioma, melanoma (incluyendo intraocular (ojo)), carcinoma de células de Merkel, mesotelioma (maligno), cáncer de cuello escamoso metastásico con primario oculto, carcinoma del tracto de la línea media que involucra gen NUT, cáncer de boca, síndromes de neoplasia endocrina múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena, crónica (CML), leucemia mieloide, aguda (AML), mieloma y mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos (crónica), cáncer de cavidad nasal y seno paranasal, cáncer de nasofaringe, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin (ambos subtipos, de linfocitos B y de linfocitos T), cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer oral, cáncer de cavidad oral, labio y cáncer de orofaringe, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno de hueso, cáncer de ovario (tal como epitelial, tumor de células germinales y tumor de bajo potencial maligno), cáncer de páncreas (incluidos los tumores de células de los islotes), papilomatosis, paraganglioma, cáncer de seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, tumores parenquimatosos pineales de diferenciación intermedia, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, embarazo y cáncer de mama, linfoma primario del
- 15
20
25
30
35
40
45
50

- sistema nervioso central (CNS), cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales (RCC) (riñón), pelvis renal y uréter, cáncer de células de transición, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma (como la familia de tumores de sarcoma de Ewing, Kaposi, tejido blando, uterino), síndrome de Sézary, cáncer de piel (tal como melanoma, carcinoma de células de Merkel, no melanoma), cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejido suave, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células escamosas de la cabeza y el cuello (HNSCC), cáncer de cuello escamoso con cáncer oculto primario, metastásico, de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, linfoma de células T (cutáneo, micosis fungoide y síndrome de Sézary), cáncer de testículo, cáncer de garganta, timoma y timo carcinoma, cáncer de tiroides, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y el uréter, cáncer de mama triple negativo (TNBC), tumor trofoblástico (gestacional), primario desconocido, cánceres inusuales de la infancia, uréter y pelvis renal, cáncer de células transicionales, cáncer de uretra, cáncer de útero, endometrio, sarcoma uterino, macroglobulinemia de Waldenström y tumor de Wilms.
- 5
- 10
18. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en donde el cáncer se selecciona de adenocarcinoma de pulmón, cáncer de mama, mieloma múltiple, cáncer de células renales y cáncer de mama triple negativo.
- 15
19. El compuesto para uso de la reivindicación 15, en donde el compuesto es para uso en el tratamiento de una enfermedad neurológica.
20. El compuesto para uso de la reivindicación 19, en donde la enfermedad neurológica se selecciona de enfermedad de Alzheimer, trastorno bipolar, demencia asociada al VIH, enfermedad de Huntington, traumatismo isquémico, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, traumatismo traumático y demencia vascular.
- 20
21. El compuesto para uso de la reivindicación 15, en donde el compuesto es para uso en el tratamiento de una enfermedad inmunológica.
22. El compuesto para uso de la reivindicación 21, en donde la enfermedad inmunológica se selecciona de enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, sepsis, psoriasis, artritis (incluida la artritis reumatoide), esclerosis múltiple, enfermedad del injerto contra el huésped, infecciones, lupus y diabetes.

25

Figura 1

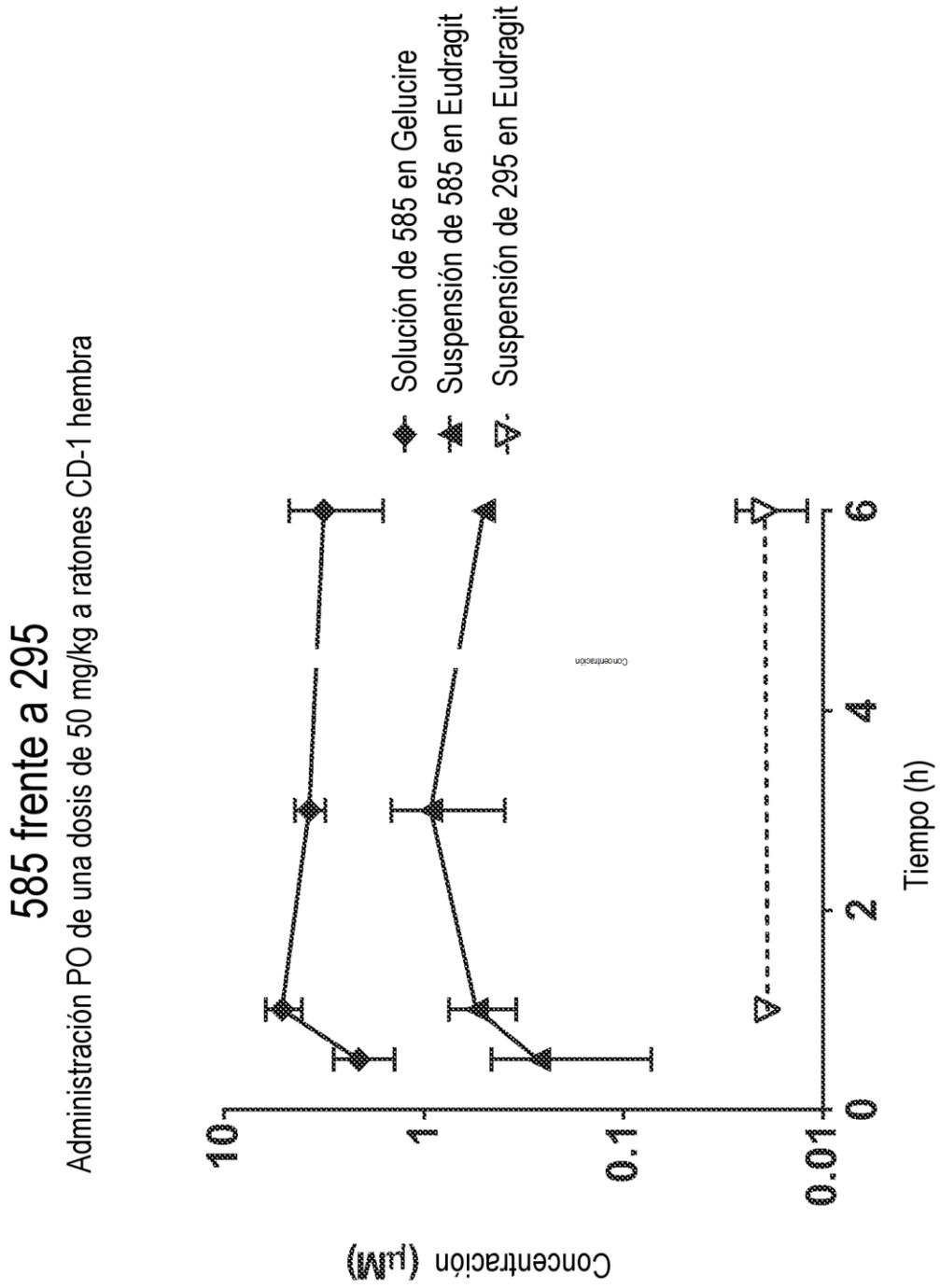


Figura 2

447 frente a 318

Administración PO de una dosis de 50 mg/kg a ratones CD-1 hembra

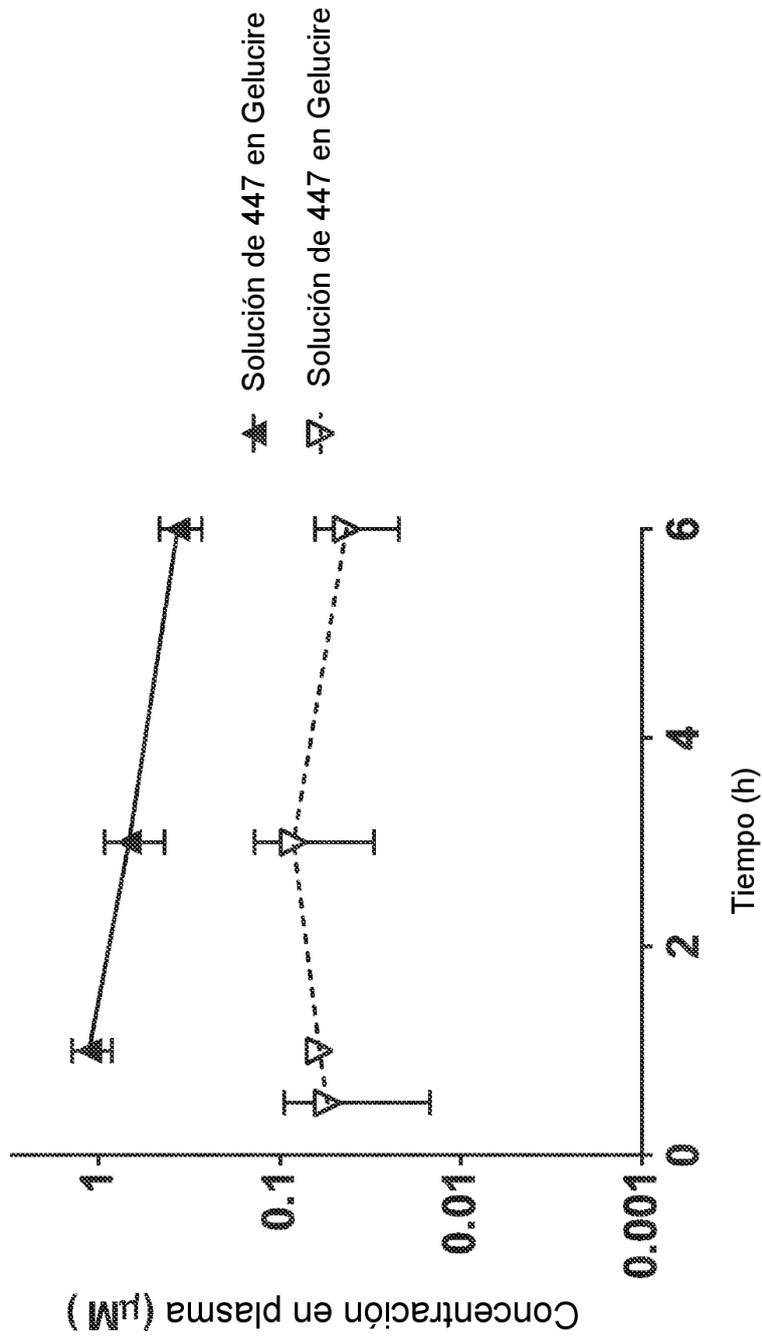


Figura 3

670
Administración PO a ratas Sprague Dawley hembra
(forulación de HPBCD)

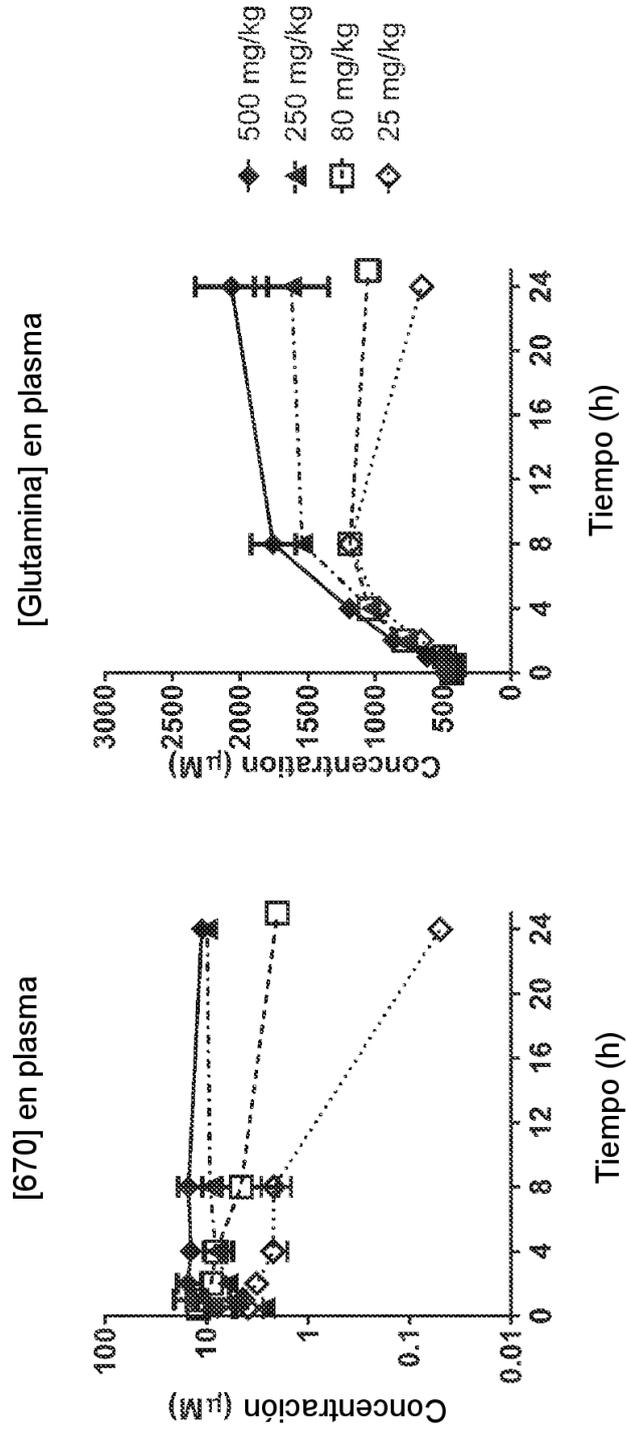


Figura 4

Xenoinjerto de adenocarcinoma pulmonar H2122

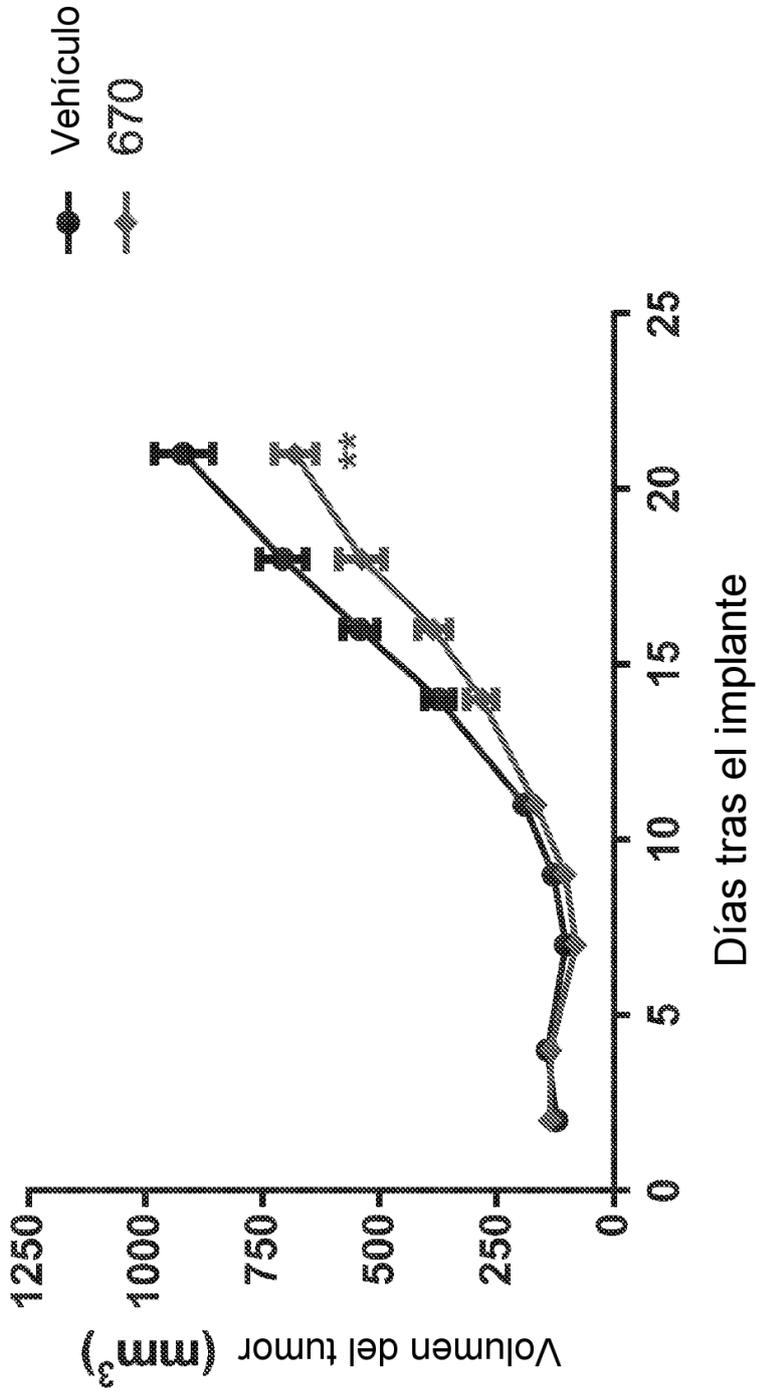


Figura 5

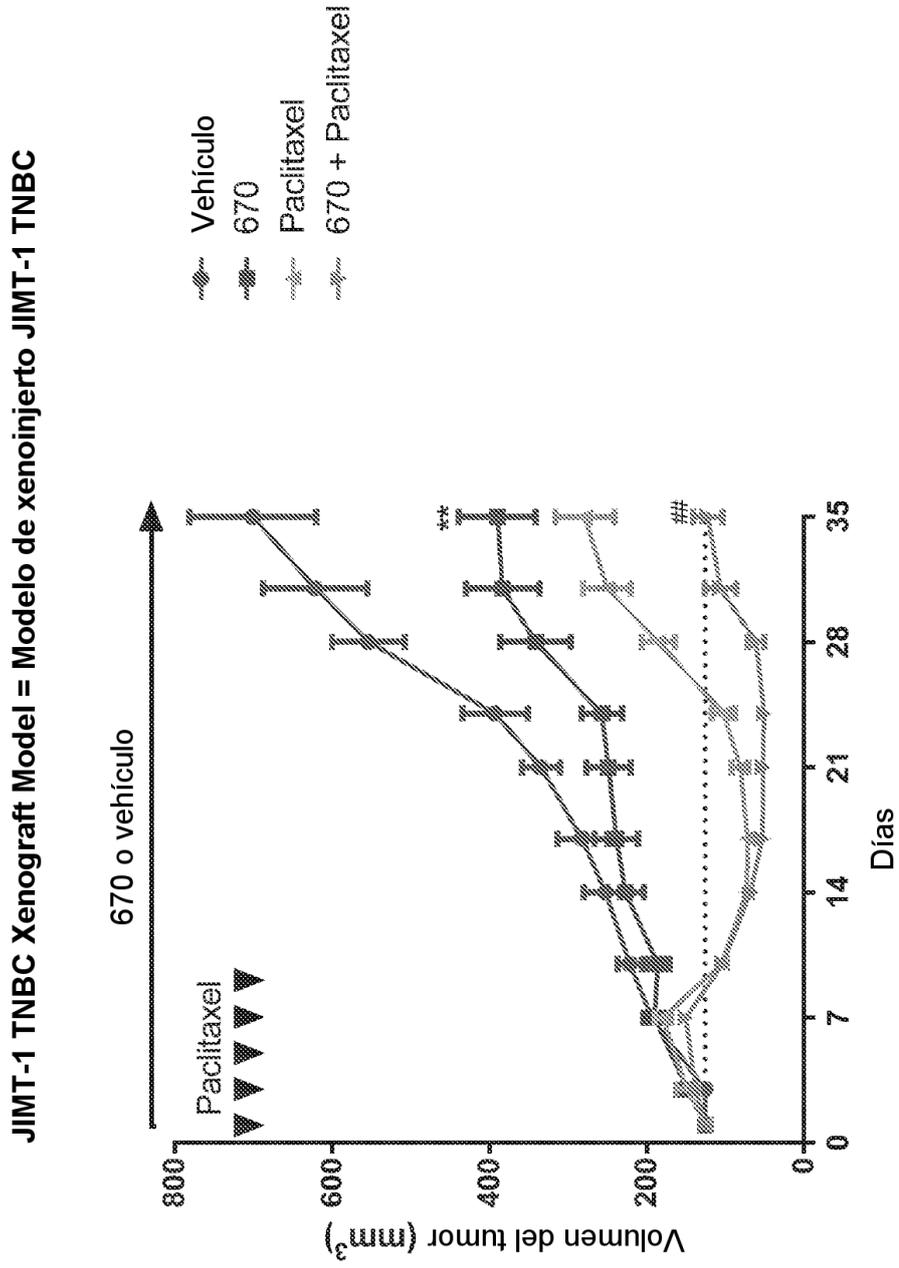


Figura 6

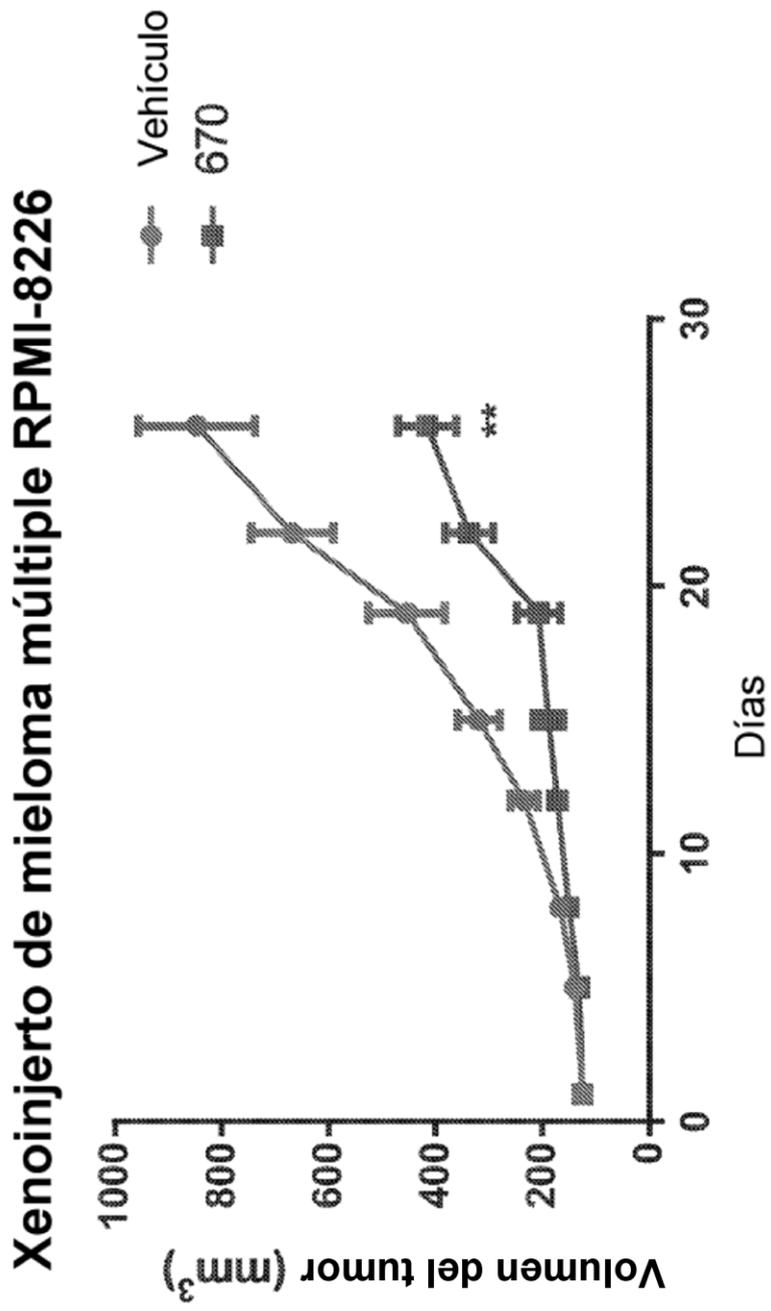
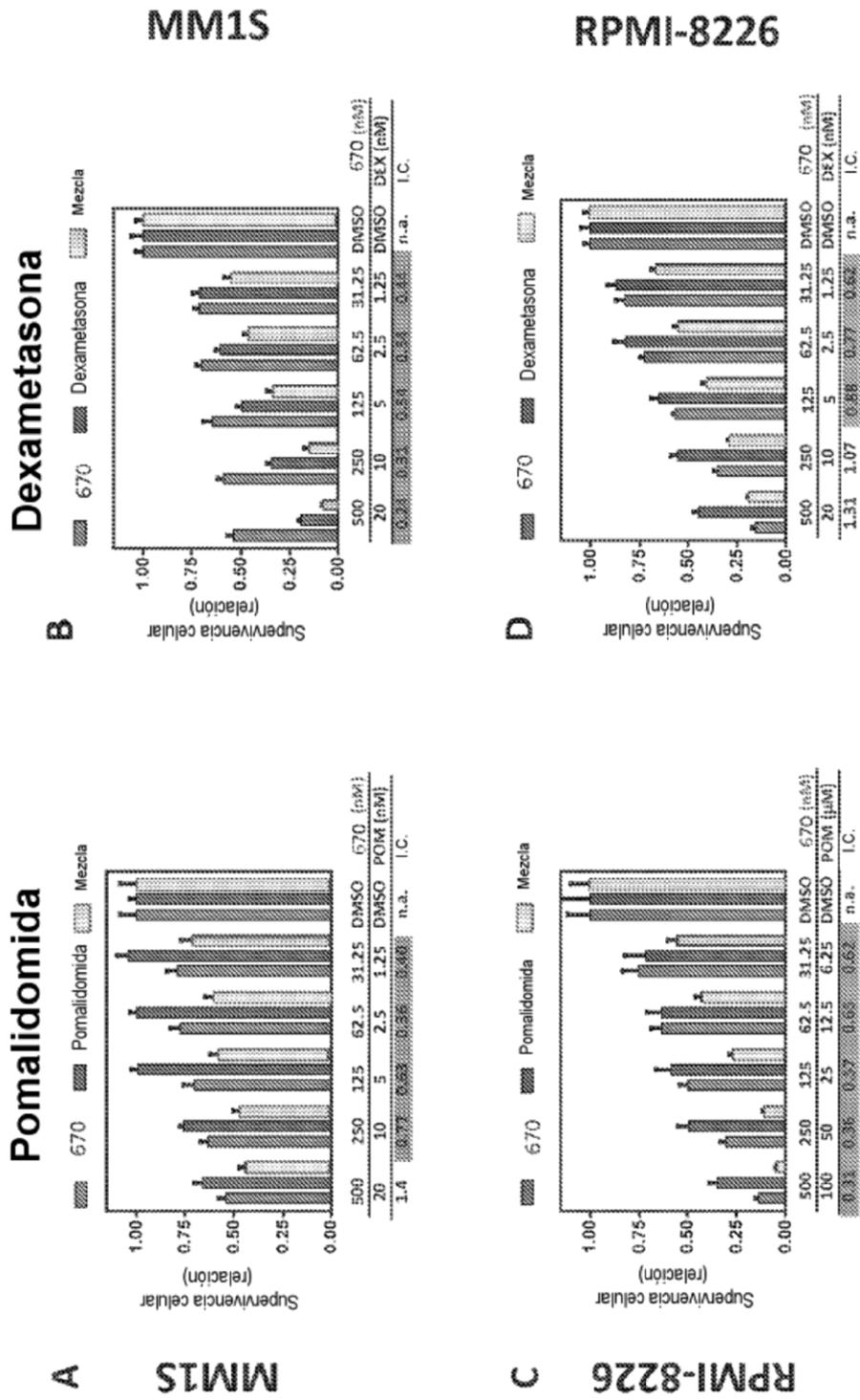


Figura 7



Índice de combinación (IC)
 CI < 1 → sinergia CI = 1 → aditividad CI > 1 → antagonismo