

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 885 474**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61K 31/437** (2006.01)

**A01N 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2016 PCT/EP2016/074638**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.04.2017 WO17064217**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2016 E 16781455 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.06.2021 EP 3362449**

54 Título: **Derivados de sibirilina para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular**

30 Prioridad:

**13.10.2015 EP 15306624**

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

**13.12.2021**

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (20.0%)**

**101, rue de Tolbiac**

**75013 Paris, FR;**

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) (20.0%);**

**UNIVERSITE DE POITIERS (20.0%);**

**SORBONNE UNIVERSITÉ (20.0%) y**

**UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1 (20.0%)**

72 Inventor/es:

**DIMANCHE-BOITREL, MARIE-THÉRÈSE;**

**BACH, STÉPHANE;**

**DELEHOUE, CLAIRE;**

**METTEY, YVETTE;**

**GOEKJIAN, PETER y**

**COMTE, ARNAUD**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 885 474 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de sibirilina para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular

5 La presente invención se refiere a derivados de sibirilina para la utilización como inhibidor de la necroptosis celular. En particular, la presente invención se refiere a derivados de sibirilina para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular.

10 La muerte celular programada es un proceso natural para eliminar las células no deseadas, tales como las células de cáncer. La necroptosis es claramente diferente de la apoptosis, ya que no implica reguladores clave de la apoptosis, tales como caspasas, miembros de la familia de Bcl-2 o la liberación de citocromo c a partir de las mitocondrias. La "necroptosis" es una ruta bioquímica especializada de necrosis programada que depende especialmente de la actividad de serina/treonina quinasa de RIPK1 (proteína quinasa 1 de interacción con receptor). Puede resultar inhibida por la necrostatina-1, un inhibidor de RIPK1 (patente US nº US 8.143.300).

15 La necroptosis puede activarse con la estimulación por TNF- $\alpha$  (factor  $\alpha$  de necrosis tumoral), FasL (ligando Fas) y TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral) y se basa en la actividad de dos serina-treonina quinasas: RIPK1 y RIPK3. TNF mediante TNFR1 (receptor 1 del factor de necrosis tumoral) conduce a la formación de dos complejos de señalización secuenciales. El complejo I proximal a receptor induce señales prosupervivencia mediante la activación de NF- $\kappa$ B (factor nuclear-kappa B) y MAPK (proteína quinasas activadas por mitógeno), mientras que el segundo complejo citosólico II señala dos rutas de muerte celular: (a) apoptosis, mediante la formación de complejo IIa, que incluye FADD (dominio de muerte asociado a Fas) que atrae la caspasa-8 y/o la caspasa-10 para activar una cascada de caspasas, (b) necroptosis, mediante activación de las quinasas RIPK1 y RIPK3 en un complejo denominado necrosoma. TNF- $\alpha$  puede inducir la necroptosis en las células Jurkat en el caso de que FADD haya sido delecionado (Miao y Degterev, *Methods Mol. Biol.* 559, 79-93, 2009).

20 El innovador resultado de que la necroptosis es un proceso controlado genéticamente ha conducido a la hipótesis de que dicha muerte celular programada es 'accesible farmacológicamente', una innovación emergente que comporta el potencial de revolucionar la medicina clínica diaria (Linkermann y Green, *N. Eng. J. Med.* 370(5), 455-465, 2014). En efecto, las dianas moleculares, incluyendo RIPK1 (proteína 1 de interacción con receptor), RIPK3 y MLKL (proteína de tipo dominio de quinasa de linaje mixto), han demostrado convincentemente que contribuyen a múltiples trastornos en los que la necroptosis es de relevancia fisiopatológica central, tales como: daño por isquemia-reperusión en el cerebro, corazón y riñones, enfermedades inflamatorias, sepsis, trastornos retinianos, enfermedades neurodegenerativas y trastornos infecciosos (Jouan-Lanhouet et al., *Semin. Cell. Dev. Biol.* 35, 2-13, 2014). Cabe destacar que los documentos nº WO 2014/100620, nº WO 2008/060907 y nº WO 2011/140164 se refieren a los derivados de pirrolo[2,3-b]piridina útiles para el tratamiento de la isquemia, la infección miocárdica, la hepatitis, el daño por reperusión o la necrosis tubular. Más recientemente, se ha mostrado que las células tumorales humanas y murinas inducen necroptosis de las células endoteliales, que estimula la extravasación de las células tumorales y la metástasis (Strilic et al., *Nature* 536(7615), 215-218, 2016). De esta manera, la necroptosis también puede ser la diana del tratamiento de la metástasis humana, la causa principal de muerte relacionada con el cáncer en el ser humano.

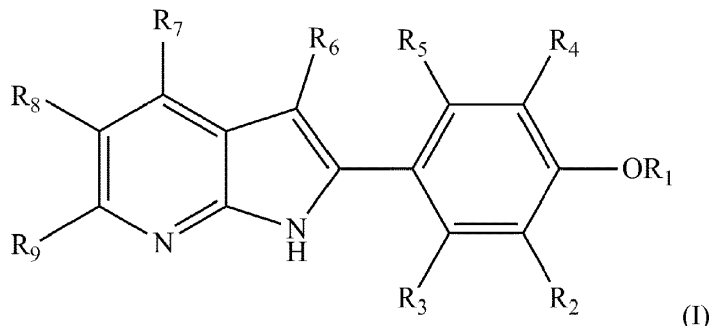
35 Solo se han desarrollado unos pocos inhibidores de RIPK1 (Degterev et al., *Nat. Chem. Biol.* 1(2), 112-119, 2005 y *Nat. Chem. Biol.* 4(5), 313-321, 2008). Entre ellos, se ha utilizado la necrostatina-1 (Nec-1) para inhibir específicamente varios procesos necróticos. Sin embargo, se ha señalado el efecto independiente de RIPK1 de Nec-1 (Cho et al., *PLoS One*. 6(8):e23209, 2011) y Nec-1 también es un inhibidor de la indolamina 2,3-dioxigenasa (Takahashi et al., *Cell Death Dis.* 3:e437, 2012). Además, la estabilidad de Nec-1 in vivo es muy limitada. Se ha informado de varias necrostatinas estructuralmente diferentes (Nec-3 (Jagtap et al., *J. Med. Chem.* 50(8), 1886-1895, 2007), Nec-4 (Teng et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17(24), 6836-6840, 2007), Nec-5 (Wang et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17(5), 1455-1465, 2007), Nec-7 (Zheng et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18(18), 4932-4935, 2008)) y modificaciones correspondientes. Recientemente, Nec-21, otro potente análogo de Nec-1, se ha informado que muestra un perfil fuera de diana mejorado (Wu et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23(17), 4903-4906, 2013). Uno de los mejores inhibidores de RIPK1 estables es Nec-1s (Nec-1 estable), el cual se ha demostrado que interactúa con un bolsillo hidrofóbico del dominio de quinasa, estabilizando de esta manera RIPK1 en una conformación inactiva (Xie et al., *Structure* 21(3), 493-9, 2013).

40 Por lo tanto, existe una necesidad de nuevos inhibidores de RIPK1 con elevado potencial, buena estabilidad y baja toxicidad.

45 De esta manera, los inventores de la presente invención han encontrado nuevos derivados de sibirilina que inhiben la muerte celular necroptótica. De esta manera, aparentemente dichos compuestos resultan muy atractivos en la terapia de prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular. Por otra parte, dichos compuestos también resultan de utilidad para la conservación y/o protección de materiales biológicos, tales como

células, tejidos, líquidos y órganos corporales, y de microorganismos, ventajosamente en forma de un dispositivo médico.

De esta manera, la presente exposición se refiere a un compuesto de la fórmula general (I) siguiente:



o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 10
- R<sub>1</sub> es H, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;
  - R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;
  - R<sub>10</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;
- 15
- R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; -OR<sub>11</sub>, -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub>; -C(O)NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>; -C(O)R<sub>16</sub>; -R<sub>17</sub>C(O)OR<sub>18</sub>; -R<sub>19</sub>C(O)R<sub>20</sub>; -R<sub>21</sub>NR<sub>22</sub>R<sub>23</sub>; -R<sub>24</sub>OR<sub>25</sub>; -R<sub>26</sub>OR<sub>27</sub>Si(R<sub>28</sub>)<sub>3</sub>; -S(O)<sub>2</sub>R<sub>29</sub>; -OR<sub>30</sub>C(O)OR<sub>31</sub>; -OC(O)R<sub>32</sub>; -C(O)OR<sub>33</sub>; -O-SO<sub>2</sub>-NR<sub>34</sub>R<sub>35</sub> o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo
- 20
- opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y
- 25
- R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, benzoilbencilo, o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, heterociclo, alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o R<sub>12</sub>-R<sub>13</sub>, R<sub>14</sub>-R<sub>15</sub>, R<sub>22</sub>-R<sub>23</sub>, R<sub>34</sub>-R<sub>35</sub>, R<sub>37</sub>-R<sub>38</sub>, R<sub>42</sub>-R<sub>43</sub>, R<sub>50</sub>-R<sub>51</sub> y/o R<sub>53</sub>-R<sub>54</sub> pueden juntos, respectivamente, formar un heterocicloalquilo,
- 30

para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular.

La presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula general (I) anterior o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 35
- R<sub>1</sub> es H, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo, preferentemente R<sub>1</sub> es H, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;
  - R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;
  - R<sub>10</sub> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);
  - R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterociclo, arilo, heteroarilo, alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo
- 40
- opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o
- 45
- varios alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y
- 50
- R<sub>36</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, benzoilbencilo, o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, heterociclo, alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo, sustituyéndose

dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo,  $CF_3$  o alquilo ( $C_1-C_6$ ), o  $R_{37}-R_{38}$ ,  $R_{42}-R_{43}$ ,  $R_{50}-R_{51}$  y/o  $R_{53}-R_{54}$  pueden juntos, respectivamente, formar un heterocicloalquilo,

para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular

5 Para el propósito de la invención, la expresión "farmacéuticamente aceptable" pretende significar qué resulta útil en la preparación de una composición farmacéutica, y qué resulta generalmente seguro y no tóxico, para un uso farmacéutico.

10 La expresión "sal o solvato farmacéuticamente aceptable" pretende significar, en el marco de la presente invención, una sal o un solvato de un compuesto que resulta farmacéuticamente aceptable, tal como se ha definido anteriormente, y que posee la actividad farmacológica del compuesto correspondiente.

Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden:

15 (1) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, tales como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico y fosfórico, o formados con ácidos orgánicos, tales como los ácidos acético, bencenosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroxinaftoico, 2-hidroxi-etanosulfónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mucónico, 2-naftalenosulfónico, propiónico, succínico, dibenzoil-L-tartárico, tartárico, p-toluenosulfónico, trimetilacético y trifluoroacético, y

20 (2) sales de adición de base formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto se sustituye por un ion metal, tal como un ion metal alcalino, un ion metal alcalinotérreo o un ion aluminio, o coordinado con una base orgánica o inorgánica. Las bases orgánicas aceptables incluyen dietanolamina, etanolamina, N-metilglucamina, trietanolamina y trometamina. Las bases inorgánicas aceptables comprenden hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido potásico, carbonato sódico e hidróxido sódico.

25 Entre los solvatos aceptables para la utilización terapéutica de los compuestos de la presente invención se incluyen solvatos convencionales, tales como los formados durante la última etapa de la preparación de los compuestos de la invención debido a la presencia de solventes. A título de ejemplo, puede hacerse mención de solvatos debido a la presencia de agua (estos solvatos también se denominan hidratos) o etanol.

30 El término "alquilo  $C_1-C_6$ ", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a una cadena de hidrocarburo saturado lineal o ramificado que contiene entre 1 y 6 átomos de carbono, incluyendo, aunque sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo y n-hexilo.

35 El término "cicloalquilo  $C_3-C_6$ ", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un anillo hidrocarburo saturado que comprende entre 3 y 6, ventajosamente entre 5 y 6, átomos de carbono, en particular el grupo ciclohexilo, ciclopentilo, ciclobutilo o ciclopropilo.

40 El término "alquínilo  $C_2-C_6$ " tal como se utiliza en la presente invención se refiere a una cadena hidrocarburo lineal o ramificada que comprende por lo menos un triple enlace y que comprende entre 2 y 6 átomos de carbono, por ejemplo, tal como un grupo etinilo o propinilo.

45 El término "arilo", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo hidrocarburo aromático que comprende preferentemente entre 6 y 10 átomos de carbono y que comprende uno o más, especialmente 1 o 2, anillos fusionados, tales como, por ejemplo, un grupo fenilo o naftilo, ventajosamente un grupo fenilo.

50 El término "alquil( $C_1-C_6$ )-arilo", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo tal como se ha definido anteriormente, unido a la molécula mediante un grupo alquilo  $C_1-C_6$  tal como se ha definido anteriormente. En particular, el grupo alquil( $C_1-C_6$ )-arilo es un grupo bencilo.

55 El término "heterociclo" tal como se utiliza en la presente invención se refiere a un monociclo o policiclo hidrocarburo saturado, insaturado o aromático (que comprende anillos fusionados, puenteados o espiro), tales como un biciclo, en el que uno o más, ventajosamente entre 1 y 4 y más ventajosamente, 1 o 2, átomos de carbono se sustituyen, cada uno, por un heteroátomo seleccionado de entre átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre, y especialmente es un átomo de nitrógeno. Ventajosamente, el heterociclo comprende entre 5 y 15, especialmente entre 5 y 10 átomos en el anillo o anillos. Cada anillo del heterociclo presenta ventajosamente 5 o 6 elementos.

60 Según una forma de realización particular, el heterociclo es un monociclo o biciclo hidrocarburo saturado, insaturado o aromático (que comprende anillos fusionados, puenteados o espiro, especialmente anillos fusionados), presentando cada ciclo 5 o 6 elementos, y habiendo sido sustituidos entre 1 y 4, especialmente 1 o 2, átomos de carbono, por un átomo de nitrógeno u oxígeno, especialmente un átomo de nitrógeno.

65 Un heterociclo puede ser especialmente tiofeno, furano, dioxano, dioxalano, pirrol, imidazol, pirazol, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, triazoles (1,2,3-triazol y 1,2,4-triazol), benzofurano, tetrahidrofurano, indol, benzotiofeno,

bencimidazol, indazol, benzoxazol, bencisoxazol, benzotiazol, bencisotiazol, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, triazina, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, piperidina, piperazina, triazinano, morfolina, pirrolidina, dihidropiridinas, dihidropirimidinas (especialmente 1,2-dihidropirimidina), dihidropiridazinas, dihidropirazines, dihidrotriazinas, tetrahidropiridinas, tetrahidropirimidinas, tetrahidropiridazinas, tetrahidropirazines y tetrahidrotriazinas.

El término "alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo heterociclo tal como se ha definido anteriormente, unido a la molécula mediante un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> tal como se ha definido anteriormente. En particular, el grupo alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo es un grupo metilmorfolinilo o metilpiperazinilo.

El término "heterocicloalquilo", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un heterociclo saturado, tal como se ha definido anteriormente.

Según una forma de realización particular de la presente invención, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo hidrocarburo saturado que presenta entre 5 y 7 elementos, en el que uno o más, ventajosamente, uno o dos, átomos de carbono se han sustituido, cada uno, por un heteroátomo, tal como un átomo de azufre, nitrógeno u oxígeno. Puede ser especialmente un grupo 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofurano, piperidinilo, pirrolidinilo o tetrahidropiranilo, preferentemente un grupo 1,3-dioxolanilo o 1,4-dioxanilo.

El término "heteroarilo" tal como se utiliza en la presente invención se refiere a un heterociclo aromático tal como se ha definido anteriormente.

Según una forma de realización particular, el heteroarilo es un monociclo o biciclo (es decir, que comprende dos anillos fusionados) hidrocarburo aromático, presentando cada ciclo 5 o 6 elementos, especialmente 6 elementos, y habiendo sido sustituidos entre 1 y 4, especialmente 1 o 2 átomos de carbono, cada uno por un átomo de nitrógeno u oxígeno, especialmente un átomo de nitrógeno.

Un heteroarilo puede ser especialmente tiofeno, furano, pirrol, imidazol, pirazol, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, triazoles (1,2,3-triazol y 1,2,4-triazol), benzofurano, indol, benzotiofeno, bencimidazol, indazol, benzoxazol, bencisoxazol, benzotiazol, bencisotiazol, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, triazina, quinolina, isoquinolina, quinoxalina y quinazolina. En particular, el heteroarilo es tiofeno, imidazol, bencimidazol, pirazina o isoquinolina.

El término "halógeno", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a un átomo de flúor, bromo, cloro o yodo.

Según una forma de realización particular de la presente invención, R<sub>1</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, preferentemente etilo.

R<sub>1</sub> también puede formar, junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub>, un heterocicloalquilo, preferentemente un grupo 1,3-dioxolanilo o 1,4-dioxanilo.

En las definiciones anteriores de R<sub>1</sub>, el alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> es preferentemente metilo, etilo o isopropilo.

En las definiciones anteriores de R<sub>1</sub>, el cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> es preferentemente ciclopentilo o ciclohexilo.

En una forma de realización preferida, R<sub>3</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son H. En otra forma de realización, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son H. Todavía en otra forma de realización, R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son H.

Según la presente invención, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

Según una forma de realización particular de la presente exposición, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> representan, independientemente unos de otros, H; halo; -OR<sub>11</sub>; -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub>; -R<sub>19</sub>C(O)R<sub>20</sub>; -R<sub>24</sub>OR<sub>25</sub>; o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, y un grupo heterociclo; siendo R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> tal como se ha definido anteriormente.

En otra forma de realización de la presente exposición, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; -OR<sub>11</sub>; -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub>; -R<sub>19</sub>C(O)R<sub>20</sub>; -R<sub>24</sub>OR<sub>25</sub>; o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, fenilo, bencilo, tiofenilo, bencimidazolilo o imidazolilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>,

-NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y un grupo heterociclo, preferentemente -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo o un grupo heterociclo, más preferentemente -OR<sub>36</sub> o un grupo -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; siendo R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> tal como se ha definido anteriormente.

En una forma de realización preferida de la presente invención, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, fenilo, bencilo, tiofenilo, bencimidazolilo o imidazolilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, y un grupo heterociclo, preferentemente -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo o un grupo heterociclo, más preferentemente -OR<sub>36</sub> o un grupo -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; siendo R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> tal como se ha definido anteriormente.

En otra forma de realización preferida, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; siendo R<sub>36</sub> tal como se ha definido anteriormente; preferentemente, R<sub>36</sub> es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, más preferentemente, un grupo metilo.

Ventajosamente, R<sub>7</sub> es H, halo o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, siendo R<sub>36</sub> tal como se ha definido anteriormente. Más ventajosamente, R<sub>7</sub> es H o halo.

Ventajosamente, R<sub>8</sub> es H, halo o un grupo seleccionado de entre alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; siendo R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> tal como se ha definido anteriormente.

Ventajosamente, R<sub>9</sub> es H, halo o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; siendo R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> tal como se ha definido anteriormente.

Más ventajosamente, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo o -OR<sub>36</sub>; siendo R<sub>36</sub> tal como se ha definido anteriormente; preferentemente, siendo R<sub>36</sub> un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, más preferentemente, un grupo metilo.

En una forma de realización particular, R<sub>9</sub> es H.

En una forma de realización particular, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son H y R<sub>7</sub> es tal como se ha definido anteriormente.

En otra forma de realización particular, R<sub>7</sub> y R<sub>9</sub> son H y R<sub>8</sub> es tal como se ha definido anteriormente.

En otra forma de realización particular, R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son H.

En las definiciones anteriormente proporcionadas de R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub>, el arilo es preferentemente un fenilo.

Según una forma de realización particular de la presente exposición, R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o metilo.

R<sub>12</sub>-R<sub>13</sub>, R<sub>14</sub>-R<sub>15</sub>, R<sub>22</sub>-R<sub>23</sub>, R<sub>34</sub>-R<sub>35</sub>, R<sub>37</sub>-R<sub>38</sub>, R<sub>42</sub>-R<sub>43</sub>, R<sub>50</sub>-R<sub>51</sub> y/o R<sub>53</sub>-R<sub>54</sub> también pueden formar juntos, respectivamente, un heterocicloalquilo, preferentemente un grupo 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofurano, piperidinilo, pirrolidinilo o tetrahidropirano.

Según una forma de realización particular de la presente invención, R<sub>36</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o metilo.

R<sub>37</sub>-R<sub>38</sub>, R<sub>42</sub>-R<sub>43</sub>, R<sub>50</sub>-R<sub>51</sub> y/o R<sub>53</sub>-R<sub>54</sub> también pueden formar juntos, respectivamente, un heterocicloalquilo, preferentemente un grupo 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofuranilo, piperidinilo, pirrolidinilo o tetrahidropirranilo.

5 Según una forma de realización particular de la presente exposición, en la fórmula general (I) o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

– R<sub>1</sub> es H y un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;

10 – R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;

– R<sub>10</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

15 – R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, -OR<sub>11</sub>, -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub>; -R<sub>19</sub>C(O)R<sub>20</sub>; -R<sub>24</sub>OR<sub>25</sub>, o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, fenilo, bencilo, tiofenilo, bencimidazolilo o imidazolilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y un grupo heterociclo, preferentemente -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo o un grupo heterociclo, más preferentemente -OR<sub>36</sub> o un grupo -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; preferentemente H, halo o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; y

25 – R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o metilo.

30 Según una primera forma de realización de la presente invención, en la fórmula general (I) o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

– R<sub>1</sub> es H y un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;

35 – R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;

– R<sub>10</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

40 – R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, fenilo, bencilo, tiofenilo, bencimidazolilo o imidazolilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, y un grupo heterociclo, preferentemente -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>52</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo o un grupo heterociclo, más preferentemente -OR<sub>36</sub> o un grupo -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; preferentemente H, halo o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo; y

50 – R<sub>36</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo o un grupo seleccionado de entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o metilo.

Según una segunda forma de realización de la presente invención:

55 – R<sub>1</sub> es H, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;

– R<sub>3</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son H;

– R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;

60 – R<sub>10</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

– R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo o -OR<sub>36</sub>;

– R<sub>36</sub> es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, más preferentemente un grupo metilo.

5

El compuesto de fórmula general (I) puede seleccionarse de entre los compuestos 1 a 10, preferentemente de entre 1 a 8, descritos en la parte experimental, posteriormente, y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 Según una forma de realización particular de la presente invención, en la totalidad de las definiciones anteriormente proporcionadas, las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de la invención pueden ser sales de adición de ácido bromhídrico.

15 Según una forma de realización particular, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente para la utilización como inhibidor de la necroptosis celular.

En particular, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente, para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular.

20 La presente invención se refiere además al compuesto de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente, para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales.

25 La presente invención se refiere además a la utilización de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco para la inhibición de la necroptosis celular. En particular, la presente invención se refiere además a la utilización de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular. La presente invención se refiere además al compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco para la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales.

30

Los trastornos asociados a la necroptosis celular pueden ser, particularmente, traumatismos, hepatitis, lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio e ictus, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda.

35 Los trastornos asociados a la necroptosis celular también pueden ser traumatismo cerebral, hepatitis, esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda, trasplante de corazón o riñón, aterosclerosis, insuficiencia de la médula ósea, infección vírica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, ileítis terminal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio o ictus.

40

Los trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales pueden ser particularmente la extravasación de células tumorales o la metástasis.

45 La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para la utilización en la inhibición de la necroptosis celular. La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para la utilización en la inhibición de la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales.

50

55 La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para la utilización en la prevención y/o el tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular. La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para la utilización en la prevención y/o el tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales.

60 La presente invención se refiere además a la utilización de una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco para la inhibición de la necroptosis celular. En particular, la presente invención se refiere además a la utilización de una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular. La presente invención se refiere además a la utilización de una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco para la inhibición de la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales. En particular, la presente invención se refiere además a la

65

utilización de una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente, para la preparación de un fármaco en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales.

5 Los trastornos asociados a la necroptosis celular pueden ser, particularmente, traumatismos, hepatitis, lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio e ictus, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda.

10 Los trastornos asociados a la necroptosis celular también pueden ser traumatismo cerebral, hepatitis, esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda, trasplante de corazón o riñón, aterosclerosis, insuficiencia de la médula ósea, infección vírica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, ileítis terminal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio o ictus.

15 Los trastornos asociados a la necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales pueden ser particularmente la extravasación de células tumorales o la metástasis.

Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse especialmente para la administración tópica o para la inyección, estando dichas composiciones destinadas a mamíferos, incluyendo seres humanos.

20 La composición farmacéutica puede administrarse por vía oral mediante tabletas y cápsulas de gelatina.

25 En el caso de que se prepare una composición sólida en la forma de tabletas, el ingrediente activo principal se mezcla con un vehículo farmacéutico, tal como gelatina, almidón, lactosa, estearato de magnesio, talco y goma arábica. Las tabletas pueden recubrirse con sacarosa o con otros materiales adecuados, o pueden tratarse de manera que presenten una actividad prolongada o retardada y liberen continuamente una cantidad predeterminada de principio activo.

30 Se obtiene una preparación en cápsulas de gelatina mediante la mezcla del ingrediente activo con un diluyente y vertiendo la mezcla obtenida en el interior de cápsulas de gelatina blanda o dura.

Para la administración mediante inyección, se utilizan suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas o soluciones estériles e inyectables que contienen agentes dispersantes y/o agentes humectantes farmacológicamente compatibles.

35 El ingrediente activo puede administrarse en formas de administración de dosis unitaria, en mezcla con portadores farmacéuticos estándares, en animales o en seres humanos. Los compuestos de la invención como ingredientes activos pueden utilizarse en dosis de entre 0.01 mg y 1000 mg al día, administrados en una única dosis una vez al día o administrados en varias dosis durante el día, por ejemplo dos veces al día en dosis iguales. La dosis administrada cada día ventajosamente es de entre 5 mg y 500 mg, todavía más ventajosamente de entre 10 mg y 40 200 mg. Puede resultar necesario utilizar dosis fuera de dichos intervalos, según determine el experto en la materia.

45 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden comprender además por lo menos otro ingrediente activo, tal como otro inhibidor de la necroptosis celular, o un inhibidor de apoptosis, un inhibidor de autofagia, un inhibidor de ferroptosis, un inhibidor de la necrosis dependiente de poros MPT (por sus siglas de inglés, de transición de permeabilidad mitocondrial), un inhibidor de ciclofilina, un inhibidor de quinasa 5 dependiente de ciclina (CDK5), un inhibidor de parthanatos, un inhibidor de trombina, un antioxidante (tal como glutatión o alopurinol) o un inhibidor de inflamación.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende:

- 50
- (i) por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, y
  - (ii) por lo menos otro ingrediente activo, tal como otro inhibidor de necroptosis celular, o un inhibidor de apoptosis, un inhibidor de autofagia, un inhibidor de ferroptosis, un inhibidor de la necrosis dependiente de poros MPT (de transición de permeabilidad mitocondrial), un inhibidor de quinasa 5 dependiente de ciclina (CDK5), un inhibidor de Parthanatos, un inhibidor de trombina, un antioxidante (tal como glutatión o alopurinol) o un inhibidor de inflamación,
- 55

como producto de combinación para la utilización simultánea, separada o secuencial.

60 La presente invención se refiere además a la utilización de un compuesto de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente, para la conservación y/o protección de materiales biológicos, tales como células, tejidos, líquidos y órganos corporales, y de microorganismos, ventajosamente en forma de un dispositivo médico.

65 En el contexto de la presente invención, un dispositivo médico se refiere a cualquier producto que se pone en contacto con órganos, tejidos, células o productos de origen en el cuerpo humano o animal durante su

conservación, su preparación, su transformación, su envasado o su transporte antes de su uso terapéutico en seres humanos. Un dispositivo médico según la presente invención también puede ser cualquier producto que entre en contacto con embriones en el contexto de una actividad de procreación médicamente asistida. En particular, dicha categoría de productos incluye medios de conservación de injertos (tejidos u órganos), los medios utilizados en el contexto de la fertilización in vitro, o medios utilizados durante la preparación de productos de terapia celular.

En particular, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente, para la utilización en medio para conservar órganos, tejido biológico o células vivas, preferentemente para la conservación de órganos, tales como, por ejemplo, el hígado o el riñón.

De esta manera, el compuesto de la invención puede utilizarse en el caso de un injerto como producto terapéutico complementario para la conservación de células, tejidos u órganos entre el muestreo en un donante y la injertación en un receptor.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos de la invención.

### Breve resumen de las figuras

La figura 1 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 1 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 2 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 2 (Sibirilina) de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 3 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 3 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 4 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 4 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 5 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 5 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 6 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 6 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 7 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 7 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 8 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 8 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 9 representa el efecto inhibitorio de la Sibirilina (Sib, compuesto 2) sobre la necroptosis inducida por TNF al añadir Sib 1, 2, 3 o 4 horas después del inicio de tratamiento de TNF en células Jurkat deficientes en FADD.

La figura 10 representa un ensayo clonogénico que muestra que el tratamiento de Sibirilina (Sib, compuesto 2) puede restaurar el crecimiento celular y proteger las células L929 de la muerte inducida por TNF- $\alpha$ +zVAD.

La figura 11 representa la inhibición dependiente de la dosis de la autofosforilación de RIPK1 por los compuestos 2, 3 y 7.

La figura 12 representa la determinación de la constante de unión (Kd) de Sib (compuesto 2) para su diana celular principal RIPK1.

La figura 13 representa la ausencia de actividad de EroD (etoxirresorufina-O-desetilasa) inducida por el tratamiento de Sib (compuesto 2) en células HepG2 que muestra que Sib no es un ligando de AhR y no induce enzimas de metabolismo de fármacos de fase I.

La figura 14 representa el efecto inhibitorio de Sib (compuesto 2) en un modelo de hepatitis aguda dependiente de necroptosis inducida por concanavalina (ConA) en ratones. Los efectos beneficiosos de Sib in vivo se informan en dicha figura. La figura 14A muestra la proporción (peso hepático/corporal) y las diferencias de peso de ratones que recibieron diferentes tratamientos.

La figura 14B muestra que los niveles séricos de aminotransaminasa (ALT, AST) se incrementan al recibir los ratones la inyección de ConA que se correlaciona con la lesión hepática. Sib (compuesto 2) a la dosis de 3 mg/kg reduce dichos niveles séricos de transaminasa inducidos por ConA.

5 La figura 15 representa la inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 9 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

La figura 16 representa la ligera inhibición dependiente de la dosis por el compuesto 10 de la necroptosis inducida por TNF- $\alpha$  en linfocitos T humanos (línea celular Jurkat deficiente en FADD).

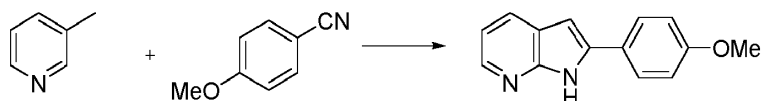
10

### Ejemplos

Se han utilizado las abreviaturas siguientes en los ejemplos siguientes:

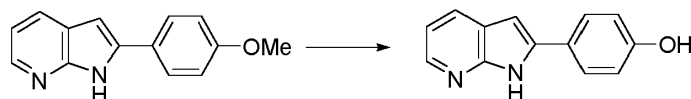
15	ALT	: alanina aminotransferasa
	AST	: aspartato aminotransferasa
	bs	: singulete ancho
	BSA	: albúmina de suero bovino
	d	: doblete
20	DMF	: dimetilformamida
	DMSO	: dimetilsulfóxido
	DTT	: ditioneitol
	EC <sub>50</sub>	: concentración eficaz semimáxima
	EDTA	: ácido etilendiamina-tetraacético
25	EGTA	: ácido etilenglicol-bis( $\beta$ -aminoetil éter)-N,N,N',N'-tetraacético
	eq	: equivalente
	Et	: etilo (CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )
	EtOAc	: acetato de etilo
	h	: hora
30	<sup>1</sup> H-	: protio
	Hz	: hercios
	IC <sub>50</sub>	: concentración inhibidora semimáxima
	J	: constante de acoplamiento
	kg	: kilogramo
35	LDA	: diisopropilamida de litio
	m	: multiplete
	M	: molar
	mCPBA	: ácido meta-cloroperoxibenzoico
	Me	: metilo (CH <sub>3</sub> )
40	mg	: miligramo
	MHz	: megahercios
	min	: minuto(s)
	m	: mililitro
	mM	: milimolar
45	mmol	: milimol
	MOPS	: ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico
	MsCl	: cloruro de metanosulfonilo
	ND	: no determinado
	nBuLi	: n-butil-litio
50	RMN	: resonancia magnética nuclear
	EP	: éter de petróleo
	q	: cuadruplete
	t.a.	: temperatura ambiente
	sS	: simplete
55	Sib	: sibirilina
	t	: triplete
	THF	: tetrahidrofurano
	XPhos	: 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo
	$\mu$ g	: microgramo
60	$\mu$ l	: microlitro
	$\mu$ M	: micromolar

## I. Síntesis de los compuestos según la invención

**Ejemplo 1: síntesis de Sib sustituido en O**5 *Síntesis de 2-(4-metoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 1):*

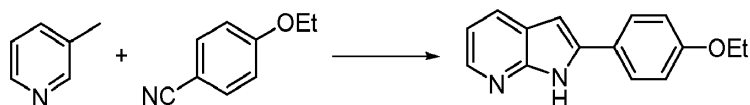
10 Se preparó LDA fresca mediante la adición gota a gota de una solución de nBuLi en hexano (1.5 ml, 2.5 M, 3.9 mmoles) bajo argón a una solución de diisopropilamina (0.54 ml, 3.9 mmoles) en THF anhidro (10 ml) a -5°C y se sometió a agitación durante 20 min. A continuación, se añadió gota a gota una solución de 3-picolina (200 mg, 2.2 mmoles, 1 eq.) en THF anhidro (10 ml) a 0°C y la mezcla naranja se sometió a agitación durante 20 min antes de añadir gota a gota una solución de 4-metoxibenzonitrilo (316 mg, 2.2 mmoles, 1 eq.) en THF anhidro (10 ml). Tras 1 h a 0°C, se añadió gota a gota más solución de LDA en THF (10 ml) (3.9 mmoles, preparados a partir de 1.5 ml de nBuLi y 0.54 ml de diisopropilamina) y la reacción se calentó lentamente hasta la t.a. durante 1 h antes de calentarse bajo reflujo en un baño de agua durante 2 h. Tras el enfriamiento, la solución amarilla se desactivó cuidadosamente con NH<sub>4</sub>Cl saturado (10 ml) y se añadió agua (40 ml). Se filtró el precipitado, se lavó con éter dietílico y agua, y se secó al vacío, proporcionando un sólido amarillo pálido (327 mg, 68%).

20 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.89 (s, 3H), 6.70 (s, 1H), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.14 (dd, J = 7.8, 5.1 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.00 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 8.23 (dd, J = 5.1, 1.3 Hz, 1H), 12.52 (bs, 1H).

*Síntesis de 4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)fenol (compuesto 2):*

25 Se suspendió 2-(4-metoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (100 mg, 0.44 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (10 ml) y se enfrió a -78°C. Se añadió gota a gota tribromuro de boro (solución 1 M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0.67 mmoles, 1.5 eq) y la mezcla marrón oscuro se sometió a agitación durante 16 h, calentándola lentamente hasta la t.a. La reacción se desactivó cuidadosamente con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 ml). El extracto orgánico se lavó con solución hipersalina, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash (95:5 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH), proporcionando un sólido de color marrón pálido (61 mg, 65%).

35 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.70 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.02 (dd, J = 7.8, 4.7 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.85 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 4.7, 1.3 Hz, 1H), 9.71 (bs, 1H), 11.93 (bs, 1H).

*Síntesis de 2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 3):*

40 Se preparó LDA nueva mediante la adición gota a gota de una solución de nBuLi en hexano (54 ml, 2.5 M, 135 mmoles) bajo argón a una solución de diisopropilamina (19 ml, 135 mmoles) en THF anhidro (150 ml) a -5°C y se sometió a agitación durante 20 min. A continuación, se añadió gota a gota una solución de 3-picolina (7 g, 75 mmoles, 1 eq.) en THF anhidro (100 ml) a 0°C y la mezcla naranja se sometió a agitación durante 20 min antes de añadir gota a gota una solución de 4-etoxibenzonitrilo (11,1 g, 75 mmoles, 1 eq.) en THF anhidro (100 ml). Tras 1 h a 0°C, se añadió gota a gota más solución de LDA en THF (150 ml) (135 mmoles, preparados a partir de 54 ml de nBuLi y 19 ml de diisopropilamina) y la reacción se calentó lentamente hasta la t.a. durante 1 h antes de calentarse bajo reflujo en un baño de agua durante 2 h. Tras el enfriamiento, la solución amarilla se desactivó cuidadosamente con NH<sub>4</sub>Cl saturado (100 ml) y se añadió agua (250 ml). Se filtró el precipitado, se lavó con éter dietílico y agua, y se secó al vacío, proporcionando un sólido amarillo pálido (11 g, 61%).

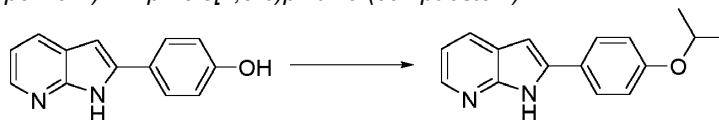
55 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.35 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 4.07 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 6.78 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.00-7.05 (m, 3H), 7.85-7.89 (m, 3H), 8.15 (dd, J = 4.7, 1.6 Hz, 1H), 12.0 (bs, 1H).

*Procedimiento general para la O-alkilación de 4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)fenol:*

Se disolvió 4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)fenol (50 mg, 0.23 mmoles) en DMF anhidro (2 ml) bajo argón, se trató

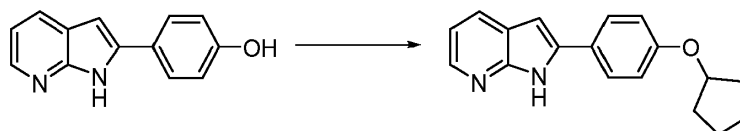
con  $K_2CO_3$  (164 mg, 5 eq, 1.2 mmoles) y se sometió a agitación a t.a. durante 15 min antes de añadir el yoduro de alquilo o bromuro de alquilo correspondiente (3 eq, 0.69 mmoles). La mezcla se sometió a agitación durante 16 h a la temperatura indicada, se desactivó con agua y se extrajo con EtOAc (2x10 ml). La capa orgánica se lavó con solución hipersalina, se secó sobre  $MgSO_4$ , se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash (80:20 PE:EtOAc), proporcionando los compuestos O-alkilados deseados.

Síntesis de 2-(4-isopropoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 4):



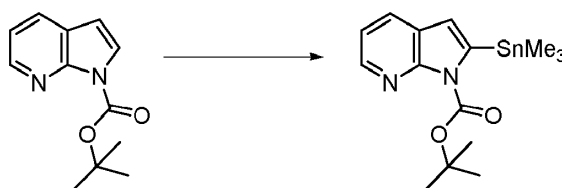
Se siguió el procedimiento general con bromuro de isopropilo, con agitación a la t.a. (32 mg, 55%). RMN- $^1H$  (300 MHz, acetona- $d_6$ ): 1.33 (d,  $J=6.0$  Hz, 6H), 4.67 - 4.75 (m, 1H), 6.76 (s, 1H), 7.01 - 7.05 (m, 3H), 7.86 - 7.89 (m, 3H), 8.16 (d,  $J=4.6$  Hz, 1H), 11.10 (bs, 1H).

Síntesis de 2-(4-(ciclopentiloxi)fenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 9):



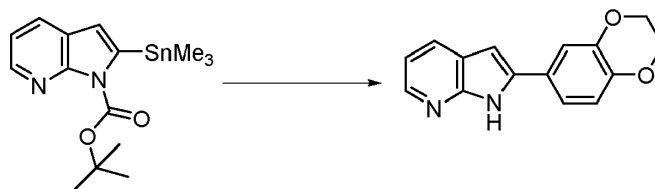
Se siguió el procedimiento general con yoduro de ciclopentilo, con agitación a 70°C (12 mg, 20%). RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 1.65 (m, 2H), 1.89 (m, 6H), 4.81 - 4.86 (m, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.96 - 7.03 (m, 2H), 7.16 (dd,  $J=7.8$ , 5.2 Hz, 1H), 7.72 - 7.82 (m, 2H), 8.03 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 8.20 (d,  $J=5.1$  Hz, 1H), 11.89 (bs, 1H).

Síntesis de 2-(trimetilestanil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina-1-carboxilato de terc-butilo:



Se disolvió 1H-pirrolo[2,3-b]piridín-1-carboxilato de terc-butilo (2 g, 9.17 mmoles) en THF anhidro (30 ml) y se enfrió a -78°C. Se añadió gota a gota nBuLi (4 ml, 2.5 M, 10 mmoles) y la mezcla se sometió a agitación durante 30 min antes de añadir una solución de cloruro de trimetilestaño (2.18 g, 1.2 eq., 11 mmoles) en THF (20 ml). La mezcla se sometió a agitación durante 12 h bajo calentamiento a 0°C y se desactivó cuidadosamente con agua (100 ml). Se llevó a cabo la extracción con  $CH_2Cl_2$  (3x50 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre  $MgSO_4$ , se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash (90:10 PE:EtOAc), proporcionando un aceite incoloro (3.35 g, 72%). RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 0.34 (s, 9H), 1.72 (s, 9H), 6.67 (s, 1H), 7.11 (dd,  $J=7.8$ , 4.8 Hz, 1H), 7.78 (dd,  $J=7.8$ , 1.7 Hz, 1H), 8.37 (dd,  $J=4.8$ , 1.7 Hz, 1H).

Síntesis de 2-(1,4-benzodioxanil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 5):

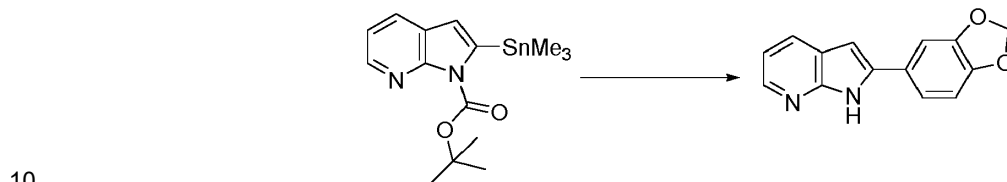


Se sometió a argón 2-(trimetilestanil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridín-1-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0.52 mmoles) con 6-bromo-2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxina (135 mg, 1.3 eq., 0.52 mmoles),  $Pd(OAc)_2$  (11 mg, 0.1 eq, 0.05 mmoles) y XPhos (74 mg, 0.3 eq, 0.15 mmoles). Se añadió dioxano anhidro (4 ml) y la reacción se sometió a agitación durante 16 h a 100°C antes de añadir más  $Pd(OAc)_2$  (11 mg) y XPhos (74 mg). Se continuó con el calentamiento durante 16 h antes de enfriar hasta la t.a. y añadir agua (10 ml) y EtOAc (10 ml) a la mezcla. La fase orgánica se extrajo con EtOAc (2x10 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre  $MgSO_4$ , se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash

(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc 95:5 a 85:15), proporcionando el compuesto de acoplamiento desprotegido en forma de un sólido amarillo (40 mg, 30%).

5 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 4.34 (s, 4H), 6.66 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.92 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 8.30 (dd, *J* = 4.9, 1.5 Hz, 1H), 11.38 (bs, 1H).

*Síntesis de 2-(1,3-benzodioxolanil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 6):*

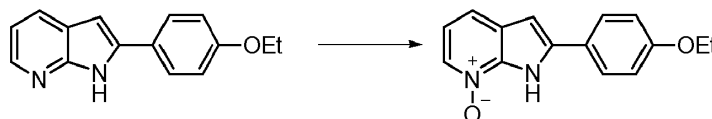


15 Se sometió a argón 2-(trimetilestanil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridín-1-carboxilato de terc-butilo (200 mg, 0.52 mmoles) con 5-bromobenzo[d][1,3]dioxol (81 µl, 1.3 eq., 0.67 mmoles), Pd(OAc)<sub>2</sub> (11 mg, 0.1 eq, 0.05 mmoles) y XPhos (74 mg, 0.3 eq, 0.15 mmoles). Se añadió dioxano anhidro (4 ml) y la reacción se sometió a agitación durante 16 h a 100°C antes de añadir más Pd(OAc)<sub>2</sub> (11 mg) y XPhos (74 mg). Se continuó con el calentamiento durante 16 h antes de enfriar hasta la t.a. y añadir agua (10 ml) y EtOAc (10 ml) a la mezcla. La fase orgánica se extrajo con EtOAc (2x10 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc 95:5 a 85:15), proporcionando el compuesto de acoplamiento desprotegido en forma de un sólido amarillo pálido (59 mg, 48%).

20 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.08 (s, 2H), 6.82 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.09 - 6.98 (m, 2H), 7.47 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 8.17 (dd, *J* = 4.7, 1.5 Hz, 1H), 12.00 (bs, 1H).

25 **Ejemplo 2: síntesis de Sibs sustituido en C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>**

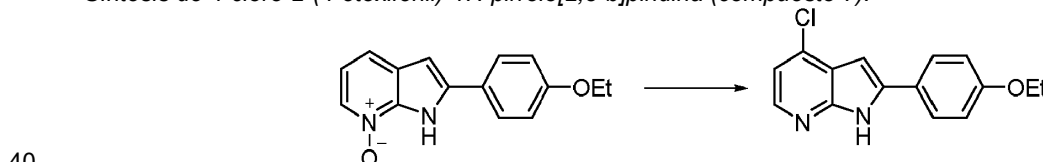
*Síntesis de 2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina-7-óxido:*



35 Se suspendió 2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (2 g, 8.4 mmoles) en una mezcla de EtOAc (10 ml) y hexano (40 ml) bajo argón y se enfrió a 0°C. Se añadió en partes mCPBA (2.7 g, 12.6 mmoles, 1.5 eq) y la reacción se calentó lentamente hasta la t.a. y se sometió a agitación durante 12 h. El solvente se eliminó al vacío y el residuo se suspendió en solución saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50 ml), se sometió a agitación vigorosa durante 30 min, se filtró y se lavó con agua, obteniendo un sólido amarillo que se secó al vacío (1.5 g, 70%).

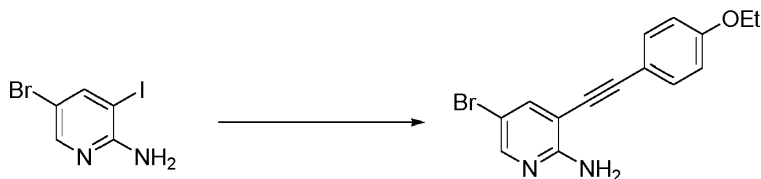
40 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.92 (s, 1H), 6.99-7.09 (m, 3H), 7.56 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.08 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 12.7 (bs, 1H).

*Síntesis de 4-cloro-2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 7):*



Se disolvió 2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridín-7-óxido (1 g, 4.1 mmoles) en DMF anhidro (10 ml) bajo argón y se añadió MsCl gota a gota (487 µl, 6.15 mmoles, 1.5 eq.). La reacción se calentó a 80°C y se sometió a agitación durante 6 h antes de enfriarla en un baño de hielo, rindiendo un precipitado. Se añadió agua (40 ml) y se filtró el sólido amarillo, se lavó con más agua y se secó al vacío (696 mg, 65%).

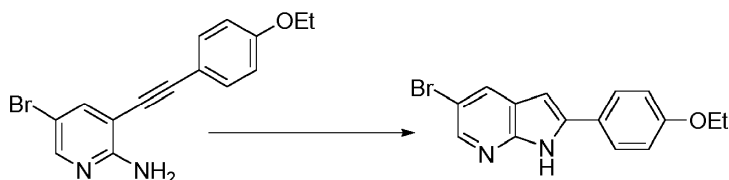
RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.35 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.12 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 12.39 (bs, 1H).

*Síntesis de 5-bromo-3-((4-etoxifenil)etnil)piridín-2-amina:*

5 Se sometió 5-bromo-3-yodopiridín-2-amina (5 g, 16.7 mmoles) a argón y se disolvió en THF anhidro (50 ml). Se añadió Et<sub>3</sub>N (11.5 ml, 5 eq, 83 mmoles) y 1-etoxi-4-etnilbenzeno (2.93 g, 1.2 eq, 20 mmoles), seguido de CuI (80 mg, 0.025 eq, 0.42 mmoles) y PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (290 mg, 0.025 eq, 0.42 mmoles). La mezcla marrón oscuro se sometió a agitación a t.a. durante 3 h antes de añadir agua (150 ml) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 ml). La capa acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y los extractos orgánicos se lavaron con agua y solución hipersalina, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash (PE:EtOAc gradiente de 90:10 a 75:25), proporcionando el compuesto deseado (4.6 g, 87%). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.43 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 4.06 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 5.12 (bs, 2H), 6.84 - 7.03 (m, 2H), 7.38 - 7.53 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 8.17 (s, 1H).

*Síntesis de 5-bromo-2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 10):*

15



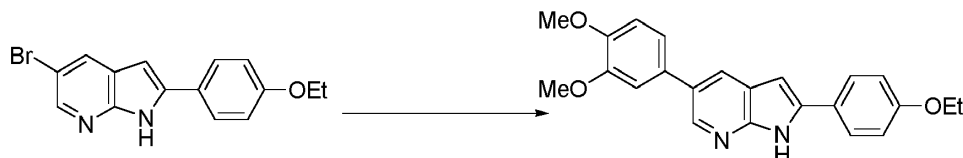
20 Se sometió 5-bromo-3-((4-etoxifenil)etnil)piridín-2-amina (1 g, 3.34 mmoles) a argón en un tubo de microondas de 5 ml y se añadió DMSO anhidro (2 ml), seguido de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.17 g, 2 eq, 6.68 mmoles). La mezcla se sometió a agitación a 180°C durante 20 min en un reactor de microondas Biotage Initiator. Tras enfriar, la reacción se diluyó con agua (15 ml); se filtró el precipitado, se lavó bien con agua (50 ml) y se secó al vacío, obteniendo un sólido marrón, que se utilizó sin purificación adicional (970 mg, 97%).

25 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.35 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 4.08 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 7.02 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.10 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.20 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 12.24 (bs, 1H).

*Procedimiento general para el acoplamiento de Suzuki de 5-bromo-2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina:*

30 Se cargó 5-bromo-2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (50 mg, 0.16 mmoles) en un vial con Pd(OAc)<sub>2</sub> (4 mg, 0.1 eq, 0.16 mmoles), SPhos (13 mg, 0.2 eq, 0.031 mmoles), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (65 mg, 3 eq, 0.47 mmoles) y el ácido borónico o éster de boronato correspondientes (1.2 eq, 0.19 mmoles). Se sometió el vial a argón y se añadió una mezcla de dioxano (1.8 ml) y agua (0.2 ml) antes de someter a agitación durante 16 h a 100°C. Tras el enfriamiento, la reacción se diluyó con EtOAc y agua, se extrajo con EtOAc (3x10 ml), se lavó con solución hipersalina, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash, proporcionando el compuesto deseado.

35

*Síntesis de 5-(3,4-dimetoxifenil)-2-(4-etoxifenil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (compuesto 8):*

40

Se siguió el procedimiento general con ácido 3,4-dimetoxibencenoborónico (28 mg, 47%).

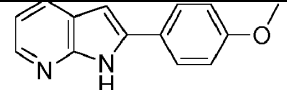
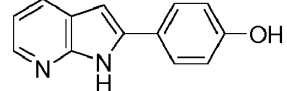
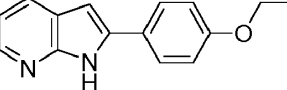
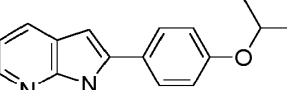
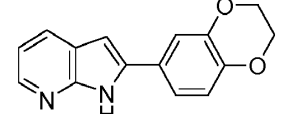
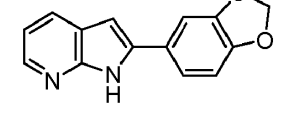
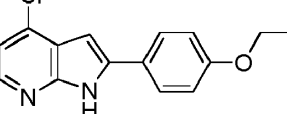
45 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.35 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 4.09 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.98 - 7.10 (m, 3H), 7.17 - 7.32 (m, 2H), 7.88 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.10 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 12.06 (bs, 1H).

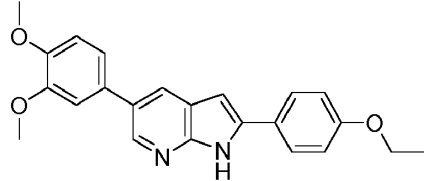
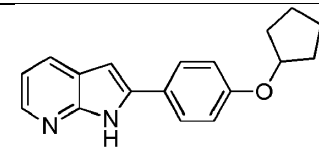
## II. Ensayos biológicos de los compuestos según la invención

**Ejemplo 3: cribado celular de bibliotecas químicas para la caracterización de inhibidores de necroptosis**

5 TNF- $\alpha$  puede inducir necroptosis en células Jurkat (linfocitos T humanos) al delecionar FADD. Se utilizó dicho modelo para cribar diversas bibliotecas de compuestos químicos para la caracterización de nuevos inhibidores de la necroptosis celular. Pueden encontrarse los detalles sobre este ensayo celular en (Miao y Degterev, Methods Mol. Biol. 559, 79-93, 2009). La línea celular Jurkat I 2.1 deficiente en FADD utilizada se adquirió en la ATCC y se mantuvo en medio RPMI 1640 (Gibco) que contenía Glutamax y suero de feto bovino al 15% (Life Technology).  
 10 Se indujo necroptosis mediante la adición de 10 ng/ml de TNF- $\alpha$  recombinante humana (Life Technology). Se utilizó necrostatina-1 (Nec-1, Enzo Life Sciences) como inhibidor modelo de la necroptosis. Las células se mantuvieron en un matraz de 75 cm<sup>2</sup> y se pasaron cada 2 o 3 días. Las colecciones químicas analizadas se formatearon en placas de 96 pocillos con 80 moléculas por placa a 10 mM en DMSO al 100%. Para cada placa de recolección, se sembraron 2 placas celulares (una en la que se indujo necroptosis con TNF- $\alpha$  y la otra sin TNF- $\alpha$ ). Las células se sembraron a razón de 20000 células/pocillo en 40  $\mu$ l de medio, en una placa de fondo plano transparente de 96 pocillos (CytoOne, Starlab) antes del tratamiento. A continuación, se añadieron 40  $\mu$ l de medio con o sin TNF- $\alpha$  a una concentración de 25 ng/ml a todos los pocillos en la placa correspondiente. Inmediatamente después de la adición de TNF- $\alpha$ , se añadieron 20  $\mu$ l de compuesto diluido a 50  $\mu$ M a las placas. La concentración final de cada compuesto químico era de 10  $\mu$ M con DMSO al 0,1%. Se utilizaron cuatro controles positivos (Nec-1 a 10  $\mu$ M de concentración final) y cuatro controles negativos (DMSO) en cada placa para validar el ensayo. Las células se incubaron a 37°C, con 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas antes de llevar a cabo el ensayo de viabilidad con MTS, descrito posteriormente. Los compuestos se diluyeron antes del tratamiento de las células. Se llevó a cabo la manipulación de líquidos con el manipulador de líquidos Nimbus Microlab (Hamilton Robotics) en una mesa de trabajo de seguridad microbiológica. Los compuestos a 10 mM se diluyeron hasta 50  $\mu$ M directamente en medio celular.  
 25

Los resultados de dichos ensayos obtenidos con los compuestos de la invención se indican a continuación y en las figuras 1 a 8:

nº	Compuesto	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
1		0,4
2		1,3
3		0,7
4		0,9
5		1,4
6		1,8
7		2

n°	Compuesto	EC <sub>50</sub> (µM)
8		1,5
9		3

**Ejemplo 4: efecto antinecrotótico de Sib**

Se pretrataron células L929, células L929AsFas, células Jurkat deficientes en FADD (Jurkat FADD<sup>-/-</sup>) y células U937 durante 1 h con concentraciones crecientes de Sib (0, 5, 10, 20 µM) y después se trataron con TNF-α (10 ng/ml)+ zVAD (20 µM), FasL (200 ng/ml) + zVAD (20 µM), TNF-α (10 ng/ml), TRAIL (200 ng/ml) + zVAD (30 µM) o TRAIL (200 ng/ml) + zVAD (30 µM) + CHX (1 µg/ml), respectivamente. Se determinó el % de muerte celular tras 24 h y se calculó mediante un análisis de FACS de los núcleos teñidos con yoduro de propidio. En cada caso, se determinó la EC<sub>50</sub>, así como el % de rescate de la muerte celular.

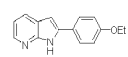
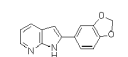
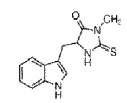
La Tabla 1 siguiente muestra el efecto antinecrotótico de Sib mediante la utilización de diversos "modelos de muerte":

Tabla 1: efecto antinecrotótico de Sib

Tipo celular	Inductor de necroptosis	% medio de muerte celular	Sibirilina	
			EC <sub>50</sub>	% de rescate
L929	TNF+Zvad	95%	3 µM	80%
L929AsFas	FasL+Zvad	95%	2.4 µM	80%
Jurkat-Fadd <sup>-/-</sup>	TNF	50%	1.2 µM	90%
U937	Trail+Zvad	55%	4 µM	90%
U937	Trail+Zvad + CHX	80%	20 µM	50%

Por otra parte, la IC<sub>50</sub> del compuesto 3, del compuesto 6 y de la necrostatina-1 (Nec-1) se determinaron en modelos celulares de ratón o humanos de necroptosis inducida por FasL + zVAD-fmk (un inhibidor de pan-caspasa) o TNF, y mediante la utilización de dos ensayos citotóxicos (ensayo de proliferación celular MTS o del nivel intracelular de ATP). Tal como se muestra en la tabla a continuación, el compuesto 3 y el compuesto 6 inhiben la necroptosis inducida por TNF-α o FasL con IC<sub>50</sub> de manera prácticamente igual a la obtenida con Nec-1.

Tabla 2: efectos antinecrotóticos de compuesto 3, compuesto 6 o necrostatina-1 (Nec-1)

Líneas celulares	Ensayos			Nec-1
Inductor de necroptosis				
L929sAhFas FasL+Zvad	nivel de ATP	2,5 µM	nd	10 µM
	MTS	nd	10 µM	10 µM
Jurkat Fadd <sup>-/-</sup> TNF	nivel de ATP	1,3 µM	4 µM	1,3 µM
	MTS	2,7 µM	7 µM	1,3 µM

**Ejemplo 5: impacto del tratamiento retardado de Sib sobre la muerte celular necroptótica**

Se trataron células Jurkat deficientes en FADD con TNF-α (10 ng/ml) y después se trataron con Sib (10 µM) 1 h, 2 h, 3 h o 4 h después de la adición de TNF-α. Se determinó el % de muerte celular tras 24 h y se calculó mediante un análisis de FACS de los núcleos teñidos con yoduro de propidio. Análisis cuantitativo de tres experimentos independientes con medias ± SD.

Los resultados de estos ensayos se indican en la figura 9. Sib inhibe la muerte celular necroptótica, aunque el fármaco se añade después (hasta 4 horas) de la adición del inductor de muerte.

#### 5 **Ejemplo 6: ensayo clonogénico (EC)**

Dicho efecto de la sibirilina sobre la necroptosis se verificó mediante la utilización de un ensayo clonogénico (EC). El EC es un ensayo de supervivencia celular in vitro basado en la capacidad de una única célula de generar una colonia.

10 Las células L929 se trataron con TNF- $\alpha$  (10 ng/ml)/z-VAD (20  $\mu$ M) con o sin Sib 10  $\mu$ M durante 24 horas. Tras el tratamiento, las células se sembraron a las diluciones apropiadas (en el presente caso, 5,000 células por pocillo) para formar colonias en 2 semanas. Las colonias se fijaron con metanol helado y se tiñeron con violeta cristal.

15 Los resultados de estos ensayos se indican en la figura 10. Tras 15 días de cultivo, las colonias celulares indicaban que el tratamiento de Sib puede restaurar el crecimiento celular y proteger las células frente a la muerte inducida por TNF- $\alpha$ .

#### 20 **Ejemplo 7: ensayo de autofosforilación de RIPK1 y ensayo de unión**

Ensayo de autofosforilación con RIPK1: se expresó con baculovirus RIPK1 de longitud completa humano etiquetado con GST en células Sf9 siguiendo las instrucciones del fabricante (sistema de expresión Bac-to-Bac, Invitrogen) y se purificó mediante la utilización de perlas de glutatión-sefarosa (GE Healthcare). La elución se llevó a cabo en tampón de Tris-HCl 50 mM, pH 8.0, complementado con glutatión reducido 30 mM (Sigma). El protocolo utilizado para detectar la actividad enzimática se adaptó de Miao y Degterev (Methods Mol. Biol. 559, 79-93, 2009). La reacción de quinasa se inició mediante la mezcla de 5  $\mu$ l de RIPK1 eluido, 5  $\mu$ l de tampón de reacción de quinasa 3X (MOPS 5 mM, pH 7.2,  $\beta$ -glicerofosfato 2.5 mM, MgCl<sub>2</sub> 4 mM, MnCl<sub>2</sub> 2.5 mM, EGTA 1 mM, EDTA 0.4 mM, BSA 50  $\mu$ g/ml, DTT 0.05 mM), 2  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O y 3  $\mu$ l de la molécula sometida a ensayo. La mezcla se mantuvo sobre hielo durante 10 minutos. Durante la incubación, se preparó la solución de ATP mediante la mezcla de 5  $\mu$ l de tampón de reacción de quinasa 3X, 4  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O, 6  $\mu$ l de ATP frío a 150  $\mu$ M y 2  $\mu$ Ci de [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP. Se añadió la solución de ATP y el inhibidor sometido a ensayo a la quinasa y se incubó durante 30 minutos a 30°C. Para detener la reacción enzimática, se añadieron 5  $\mu$ l de tampón de carga y la solución se calentó durante 3 minutos a 95°C. Se cargaron 25  $\mu$ l de cada reacción en cada pocillo en gel de Bis-Tris al 12% NuPage premoldeado (Life Technology). La banda de RIPK1 autofosforilado se visualizó en película radiográfica tras 6 h de exposición a -80°C.

Los resultados del presente ensayo obtenidos con los compuestos de la invención se indican en la figura 11. La reducción de la cantidad de RIPK1 marcado radioactivamente indica que Sib y sus derivados sometidos a ensayo inhiben la autofosforilación de RIPK1.

40 Ensayo de unión para la determinación de la constante de unión (Kd) de Sib para la RIPK1 quinasa:

KdELECT es un servicio de DiscoverX Corporation, Fremont, EE.UU. Dicho ensayo se basa en un ensayo de unión competitiva que mide cuantitativamente la capacidad de un compuesto de competir con un ligando inmovilizado con diana en un sitio activo. El ensayo se lleva a cabo mediante la combinación de tres componentes: quinasa etiquetada con ADN (en la presente memoria, RIPK1); ligando inmovilizado y un compuesto de ensayo (en la presente memoria, Sib). La capacidad de Sib de competir con el ligando inmovilizado se mide mediante PCR cuantitativa de la etiqueta de ADN. Se preparó una dilución en serie de 3 veces, de 11 puntos, en DMSO al 100% a fin de determinar la constante de unión (Kd).

50 A continuación, se calculó la Kd con una curva estándar de dosis-respuesta (informada en la figura 12) mediante la utilización de la ecuación de Hill. La Kd calculada de Sib para RIPK1 era de 230 $\pm$ 10 nM (n=2). Valida la Sib como ligando verdadero de la quinasa RIPK1. Debido a que el valor de Kd es bajo (intervalo de nM), la interacción entre RIPK1 y Sib es fuerte.

55 Ensayo de unión para la caracterización de las dianas de quinasa de Sib:

El ensayo se llevó a cabo mediante la combinación de tres componentes: quinasa etiquetada con ADN (se sometió a ensayo un total de 456 quinastas); ligando inmovilizado y un compuesto de ensayo (en la presente memoria, Sib). La capacidad de Sib de competir con el ligando inmovilizado se mide mediante PCR cuantitativa de la etiqueta de ADN. La afinidad de Sib para la quinasa sometida a ensayo se evaluó mediante detección de la cantidad restante de quinasa sobre la matriz después de la competición con Sib sometida a ensayo a una concentración de 10  $\mu$ M. Se ha demostrado que nueve proteínas quinastas y un mutante interactúan fuertemente con Sib (1% o menos de 1% de la cantidad de quinasa sometida a ensayo todavía se encuentra sobre la matriz tras competir con 10  $\mu$ M de Sib: JAK2(dominio JH1-catalítico), RIPK1, KIT(V559D), EPHB6, AURKC, DRAK2, PDGFRB, KIT y ABL1(H396P)-no fosforilado (Tabla 2). RIPK1, KIT y mutante KIT(V559D), quinasa C Aurora, ABL1(H396P)-no fosforilada y

PDGFRB se ha informado que participan en el cáncer. ABL1, KIT y PDGFR son dianas de fármacos terapéuticos del cáncer ya comercializados. Las dianas de quinasa principales de Sib se resumen posteriormente, en la Tabla 3.

5

Tabla 3: dianas de quinasa principales de Sib (compuesto 2)

Quinasa sometida a ensayo	Símbolo génico Entrez	Porcentaje del control (%)
JAK2 (dominio JH1-catalítico)	JAK2	0,2
RIPK1	RIPK1	0,2
KIT(V559D)	KIT	0,4
EPHB6	EPHB6	0,65
AURKC	AURKC	0,7
DRAK2	STK17B	0,75
PDGFRB	PDGFRB	0,75
KIT	KIT	0,8
ABL1(H396P)-no fosforilado	ABL1	1

#### Ejemplo 8: actividad de etoxiresorufina O-desetilasa (EROD, por sus siglas en inglés)

10 La actividad de EROD corresponde a la O-desetilación de la etoxiresorufina y es proporcionada principalmente por los enzimas CYP1A del citocromo P450 en las células HepG2. La inducción de CYP1A está mediada por la unión de xenobióticos al receptor de hidrocarburo arilo citosólico AhR.

15 Se trataron líneas celulares de cáncer hepático humano HepG2 con 10  $\mu$ M de Sib, Nec-1 o Nec-1s durante 24 horas. Tras el tratamiento, las células HepG2 se incubaron con PBS que contenía etoxiresorufina 5 mM y se llevó a cabo una lectura cinética a 37°C con un espectrofluorímetro (SpectraMax Gemini SX) durante un periodo de 15 min.

20 Los resultados de estos ensayos se indican en la figura 13. En contraste con Nec-1, Sib o Nec-1s (derivado de Nec-1) a 10  $\mu$ M no inducen la actividad de EROD (figura 11), lo que sugiere que estos compuestos no son ligandos de AhR y no inducen los enzimas del metabolismo de fármacos de fase I.

#### Ejemplo 9: efecto *in vivo* de las sibilinas

25 Los presentes inventores utilizaron un modelo murino de hepatitis aguda (hepatitis inducida con concanavalina A) que depende de la inducción de la necroptosis (Jouan-Lanhouet et al., Semin. Cell. Dev. Biol. 35, 2-13, 2014). Sib estaba diluida en 50% PBS/50% DMSO.

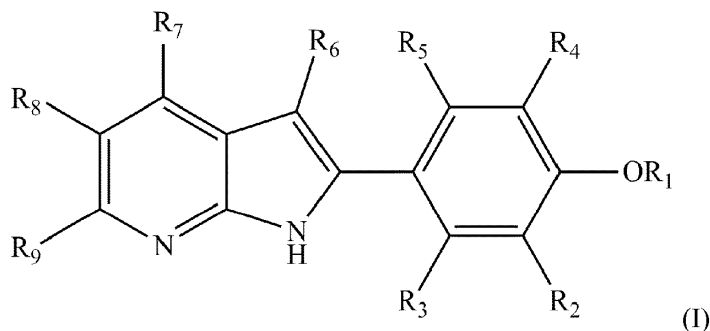
30 Se pretrataron o no ratones WT C57B1/6 con 3, 6 o 9 mg/kg de Sib o 6,25 mg/kg de Nec-1s inyectados por vía intraperitoneal 1 hora antes del tratamiento o no con 12 mg/kg de Con A durante 10 h (vía intravenosa) (50%PBS/50%DMSO, n=5; 50%PBS/50%DMSO +Con A, n=5; 3 mg/kg Sib + Con A, n=5; 6 mg/kg Sib + Con A, n=5; 9 mg/kg Sib + Con A, n=5; 6,25 mg/kg Nec-1s + Con A, n=5).

35 Hasta 9 mg/kg, la Sib no presentó ningún efecto sobre la proporción (peso hepático/corporal) (figura 14A). El tratamiento con 12 mg/kg de concanavalina A durante 10 horas incrementó los niveles séricos de AST y ALT (figura 14B), mostrando hepatotoxicidad inducida por Con A. De manera similar al pretratamiento con Nec-1s a una dosis de 6,25 mg/kg, el pretratamiento con Sib a 3 o 6 mg/kg presentaba una tendencia a reducir los niveles de AST y ALT y a proteger los ratones de la hepatitis inducida por Con A. No se observó dicha protección con Sib utilizada a una dosis de 9 mg/kg.

40 Sib a una dosis de 3 o 6 mg/kg presentaba una tendencia de protección de los ratones frente a la hepatitis inducida por Con A.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la fórmula general (I) siguiente:



o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en la que:

- R<sub>1</sub> es H, un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o un cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo, preferentemente R<sub>1</sub> es H, un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;
- R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;
- R<sub>10</sub> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);
- R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); y
- R<sub>36</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, benzoilbencilo, o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); o R<sub>37</sub>-R<sub>38</sub>, R<sub>42</sub>-R<sub>43</sub>, R<sub>50</sub>-R<sub>51</sub> y/o R<sub>53</sub>-R<sub>54</sub> pueden juntos, respectivamente, formar un heterocicloalquilo,

para la utilización en la prevención y/o tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular.

2. Compuesto para la utilización según la reivindicación 1, en el que:

- R<sub>1</sub> es H, un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o un cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo, preferentemente R<sub>1</sub> es H, un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) o R<sub>1</sub> forma junto con R<sub>2</sub> o R<sub>4</sub> un heterocicloalquilo;
- R<sub>2</sub> a R<sub>6</sub> son, independientemente uno de otro, H o OR<sub>10</sub>;
- R<sub>10</sub> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);
- R<sub>7</sub> es H, halo o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo;
- R<sub>8</sub> es H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo, arilo, heteroarilo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);
- R<sub>9</sub> es H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo y heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), ciano (-CN), oxo (=O), y un grupo seleccionado de entre arilo, heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);

- R<sub>36</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, benzoilbencilo, o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-arilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); o R<sub>37</sub>-R<sub>38</sub>, R<sub>42</sub>-R<sub>43</sub>, R<sub>50</sub>-R<sub>51</sub> y/o R<sub>53</sub>-R<sub>54</sub> pueden juntos, respectivamente, formar un heterocicloalquilo.

3. Compuesto para la utilización según la reivindicación 1 o 2, en el que R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H; halo; o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, fenilo, bencilo, tiofenilo, bencimidazolilo o imidazolilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -SR<sub>39</sub>, -S(O)R<sub>40</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>41</sub>, -SO<sub>2</sub>NR<sub>42</sub>R<sub>43</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, nitro (-NO<sub>2</sub>), cyano (-CN), oxo (=O), -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo y un grupo heterociclo, preferentemente -OR<sub>36</sub>, -NR<sub>37</sub>R<sub>38</sub>, -OCOR<sub>44</sub>, -NR<sub>45</sub>COR<sub>46</sub>, -NR<sub>47</sub>C(O)OR<sub>48</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>49</sub>, -CONR<sub>50</sub>R<sub>51</sub>, -OCONR<sub>53</sub>R<sub>54</sub>, -COR<sub>55</sub>, -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo o un grupo heterociclo, más preferentemente -OR<sub>36</sub> o un grupo -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo.

4. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R<sub>7</sub> a R<sub>9</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo, -OR<sub>36</sub> y -alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-heterociclo.

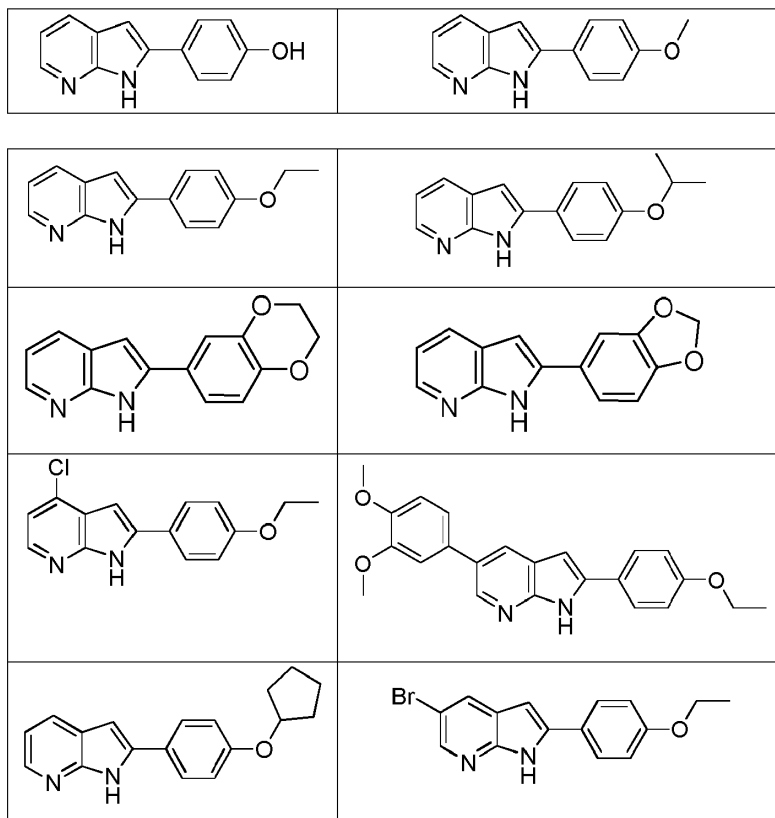
5. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:

- R<sub>7</sub> es H o halo;
- R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son, independientemente uno de otro, H, halo, o un grupo fenilo, sustituyéndose dicho grupo fenilo opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de entre halo o -OR<sub>36</sub>.

6. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 5, en el que R<sub>3</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son H.

7. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R<sub>11</sub> a R<sub>55</sub> son, independientemente unos de otros, H, halo, o un grupo seleccionado de entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, sustituyéndose dicho grupo opcionalmente con uno o varios grupos seleccionados de entre halo, CF<sub>3</sub> o metilo.

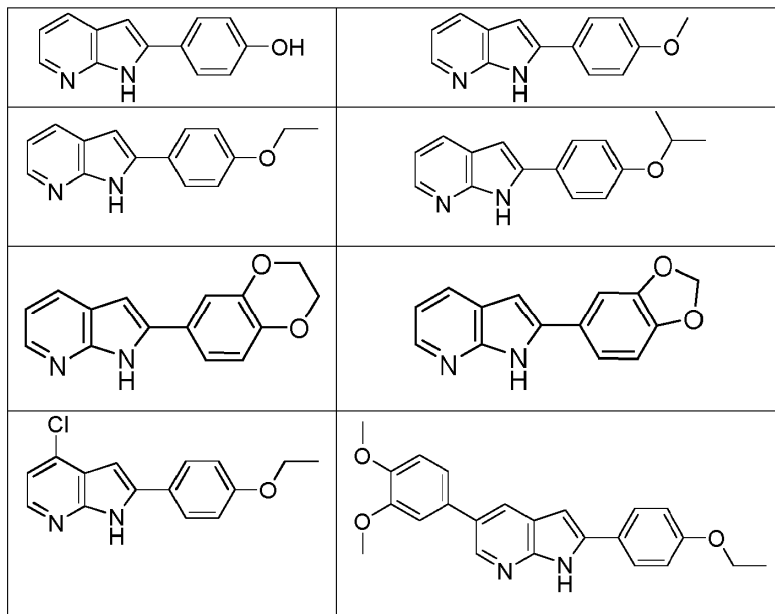
8. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que se selecciona de entre los compuestos siguientes:



y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

9. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que se selecciona de entre los compuestos siguientes:

5



y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 10. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dichas sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula general (I) son sales de adición de ácido bromhídrico.

11. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dichos trastornos asociados a la necroptosis celular son traumatismo cerebral, hepatitis, esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda, trasplante de corazón o riñón, aterosclerosis, insuficiencia de la médula ósea, infección vírica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, ileítis terminal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio o ictus.

12. Compuesto para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicha necroptosis celular es necroptosis de células endoteliales inducida por células tumorales y dichos trastornos asociados con la misma son extravasación de células tumorales o metástasis.

13. Composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para la utilización en la prevención y/o el tratamiento de trastornos asociados a la necroptosis celular.

14. Composición farmacéutica para la utilización según la reivindicación 13, en la que dichos trastornos asociados a la necroptosis celular son traumatismo cerebral, hepatitis, esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, pancreatitis aguda y necrosis tubular aguda, trasplante de corazón o riñón, aterosclerosis, insuficiencia de la médula ósea, infección vírica, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, ileítis terminal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o lesión por isquemia-reperfusión, tal como infarto de miocardio o ictus.

15. Utilización de un compuesto según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para la conservación y/o protección de materiales biológicos, tales como células, tejidos, fluidos y órganos corporales, y de microorganismos, ventajosamente en forma de un dispositivo médico.

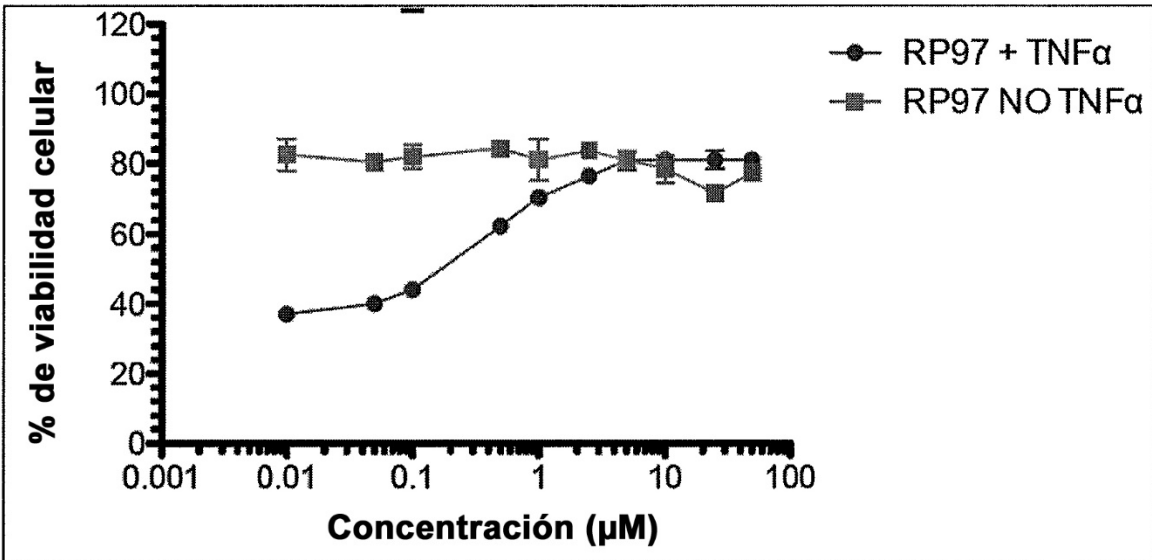


Fig. 1

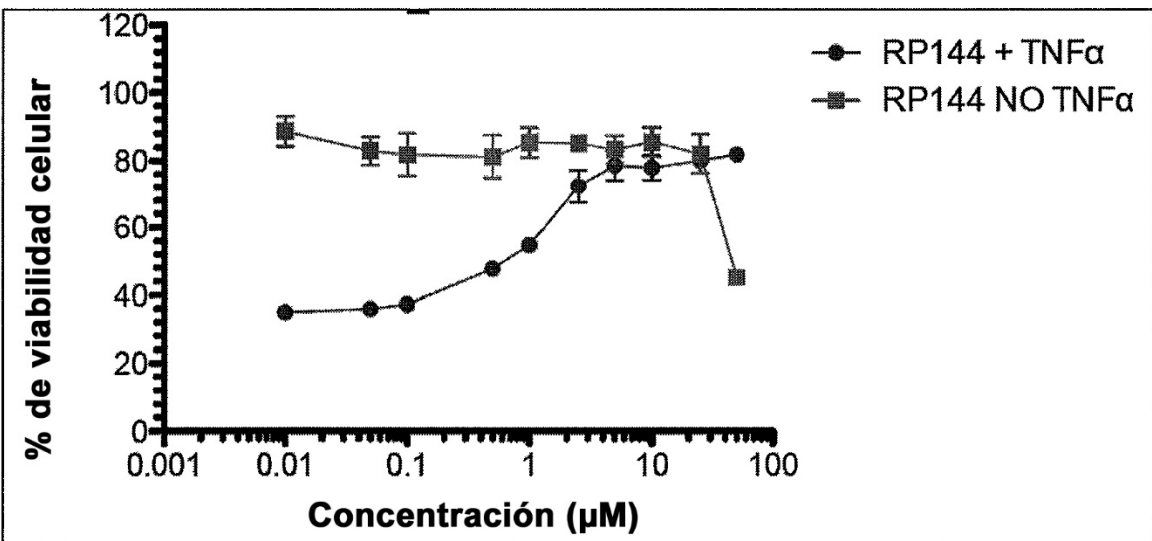


Fig. 2

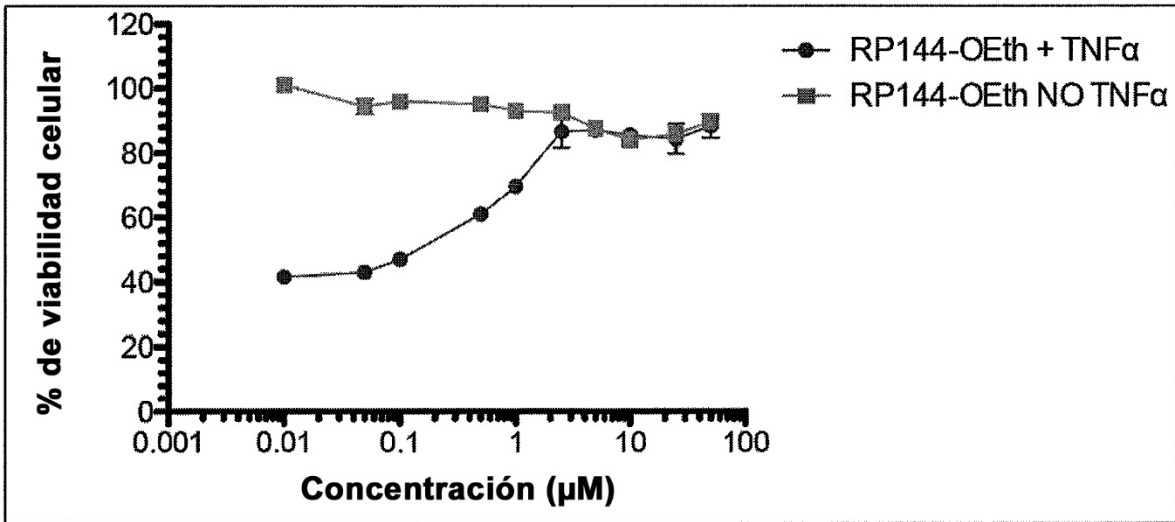


Fig. 3

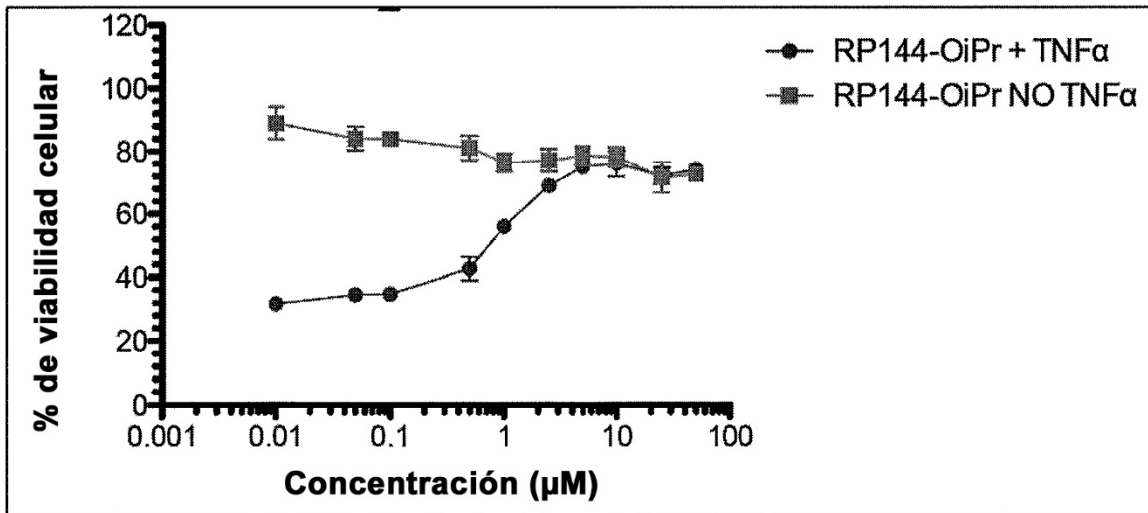


Fig. 4

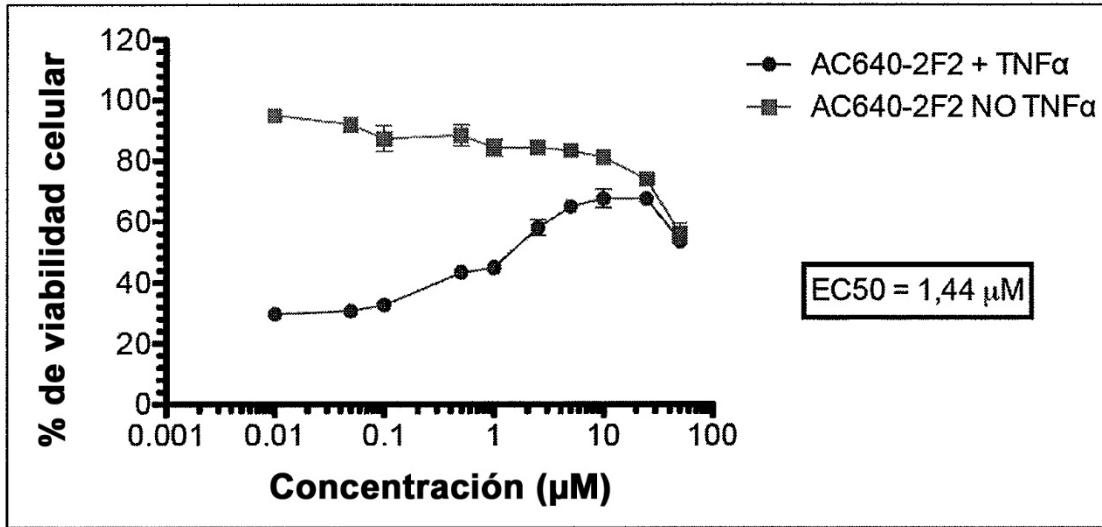


Fig. 5

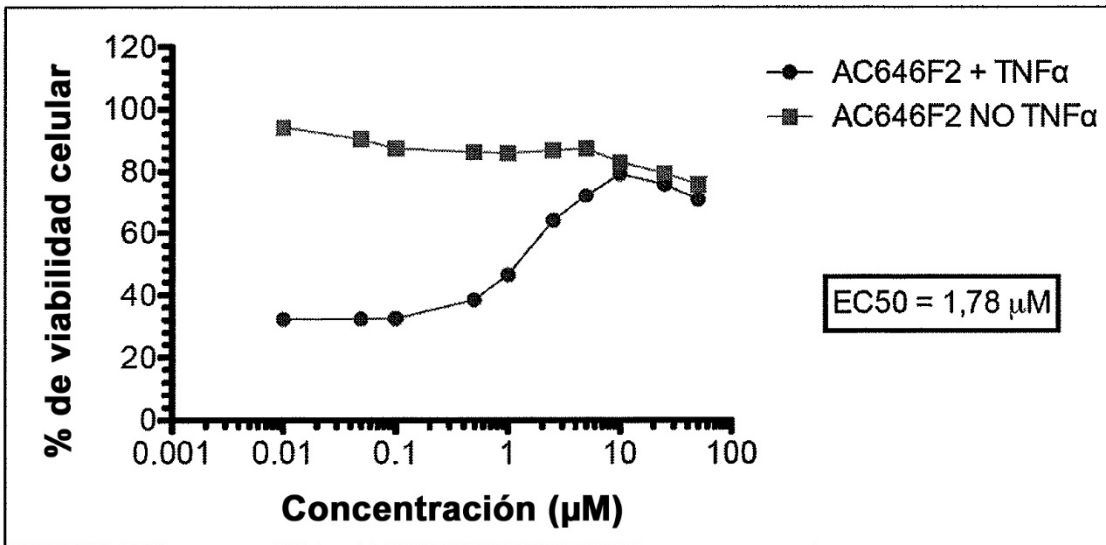


Fig. 6

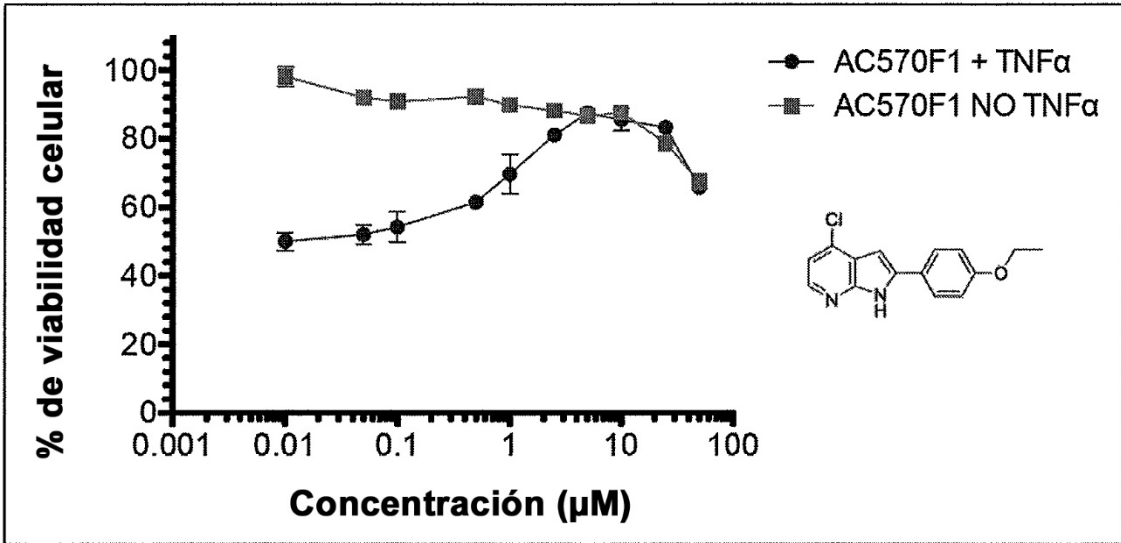


Fig. 7

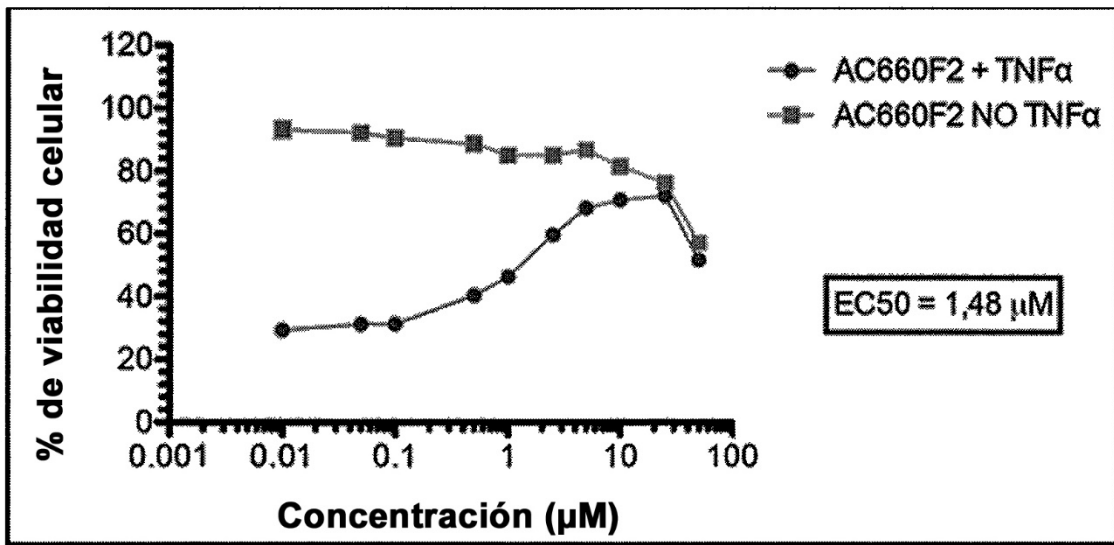


Fig. 8

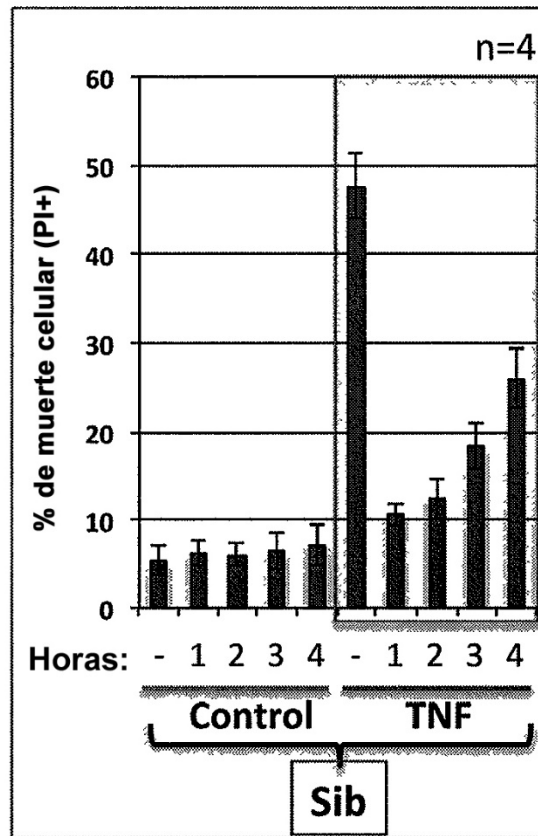


Fig. 9

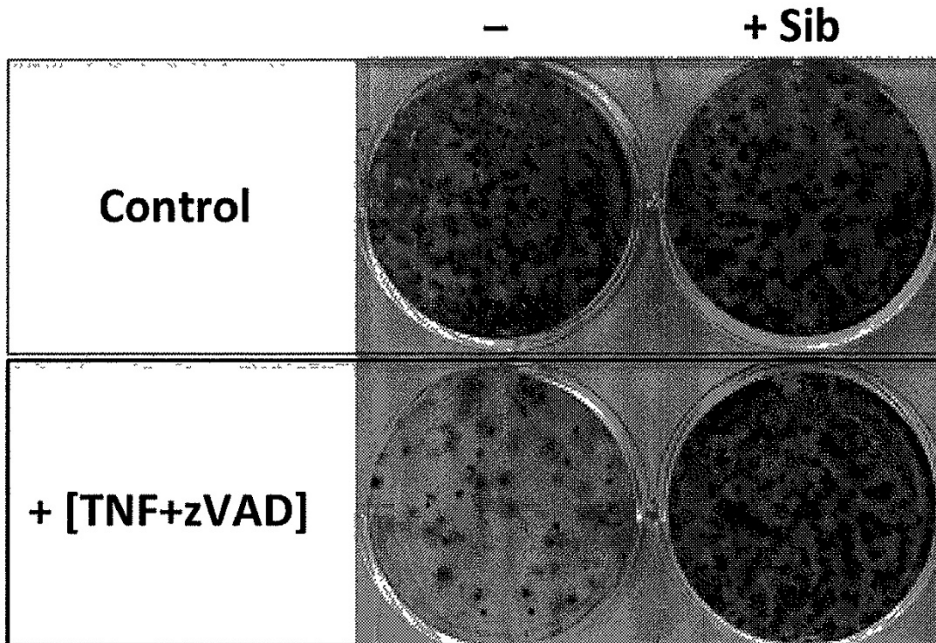


Fig. 10

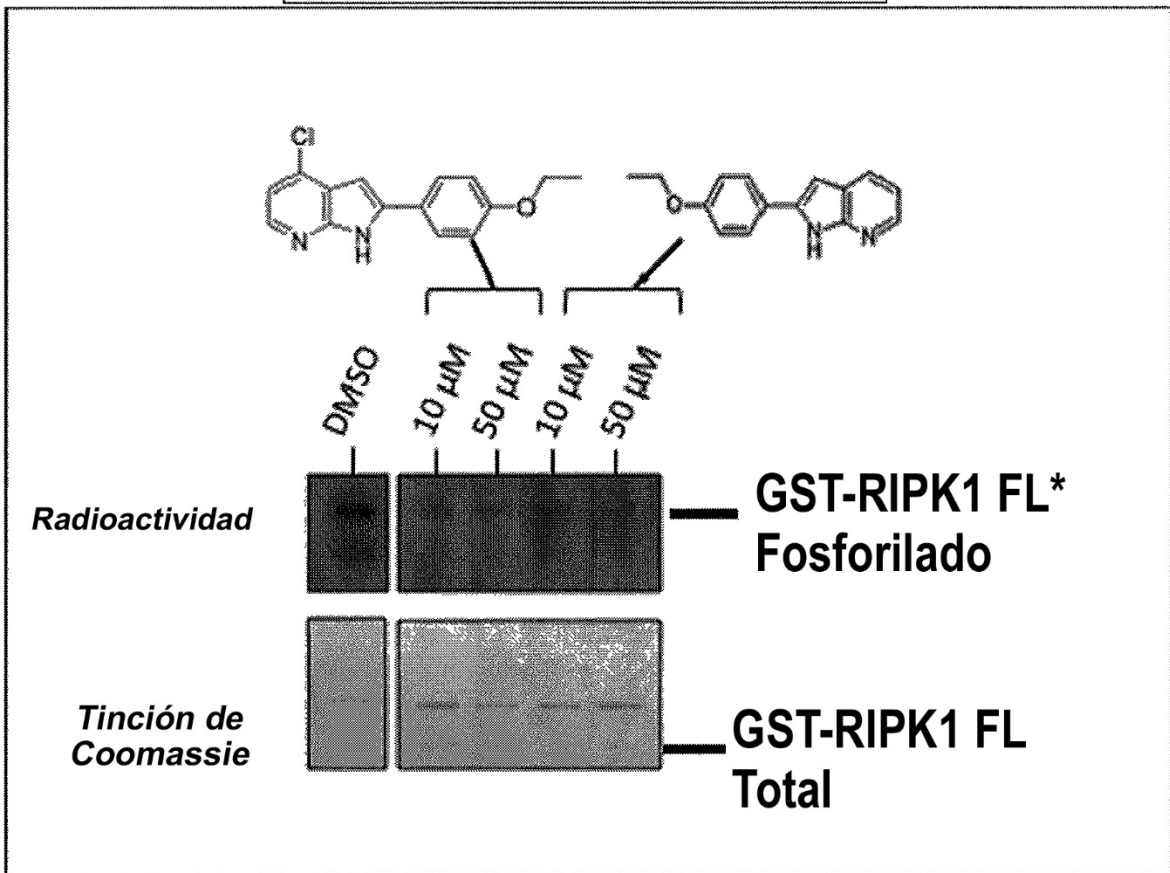
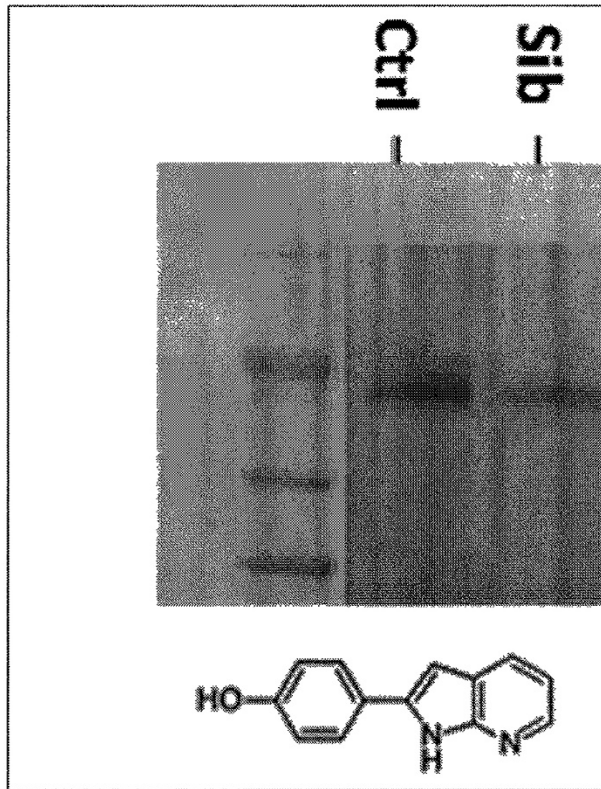


Fig. 11

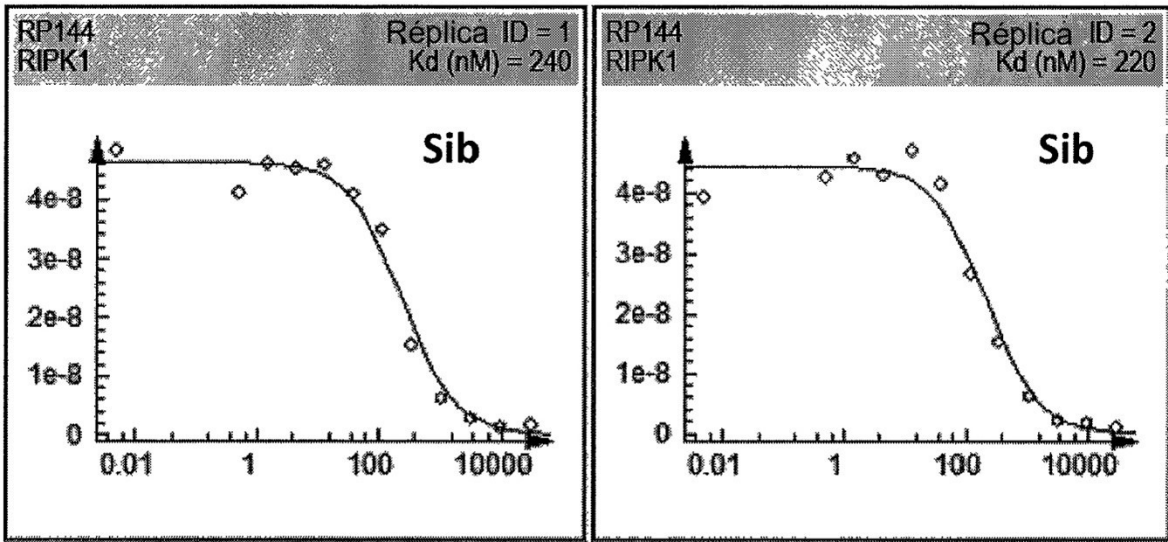


Fig. 12

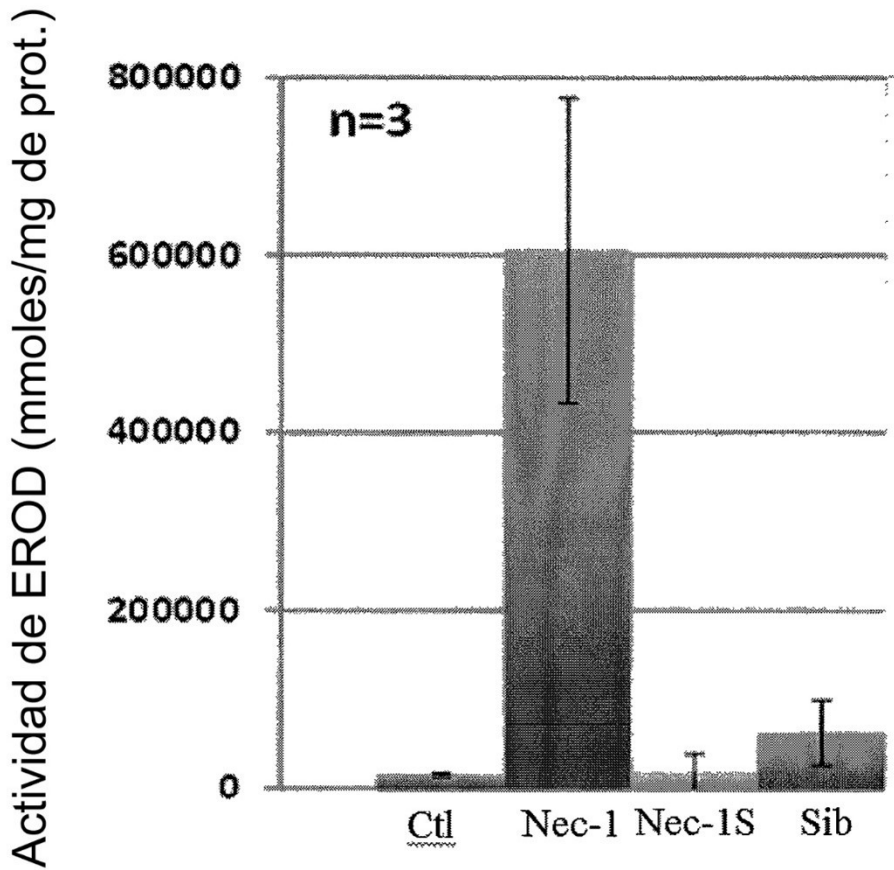


Fig. 13

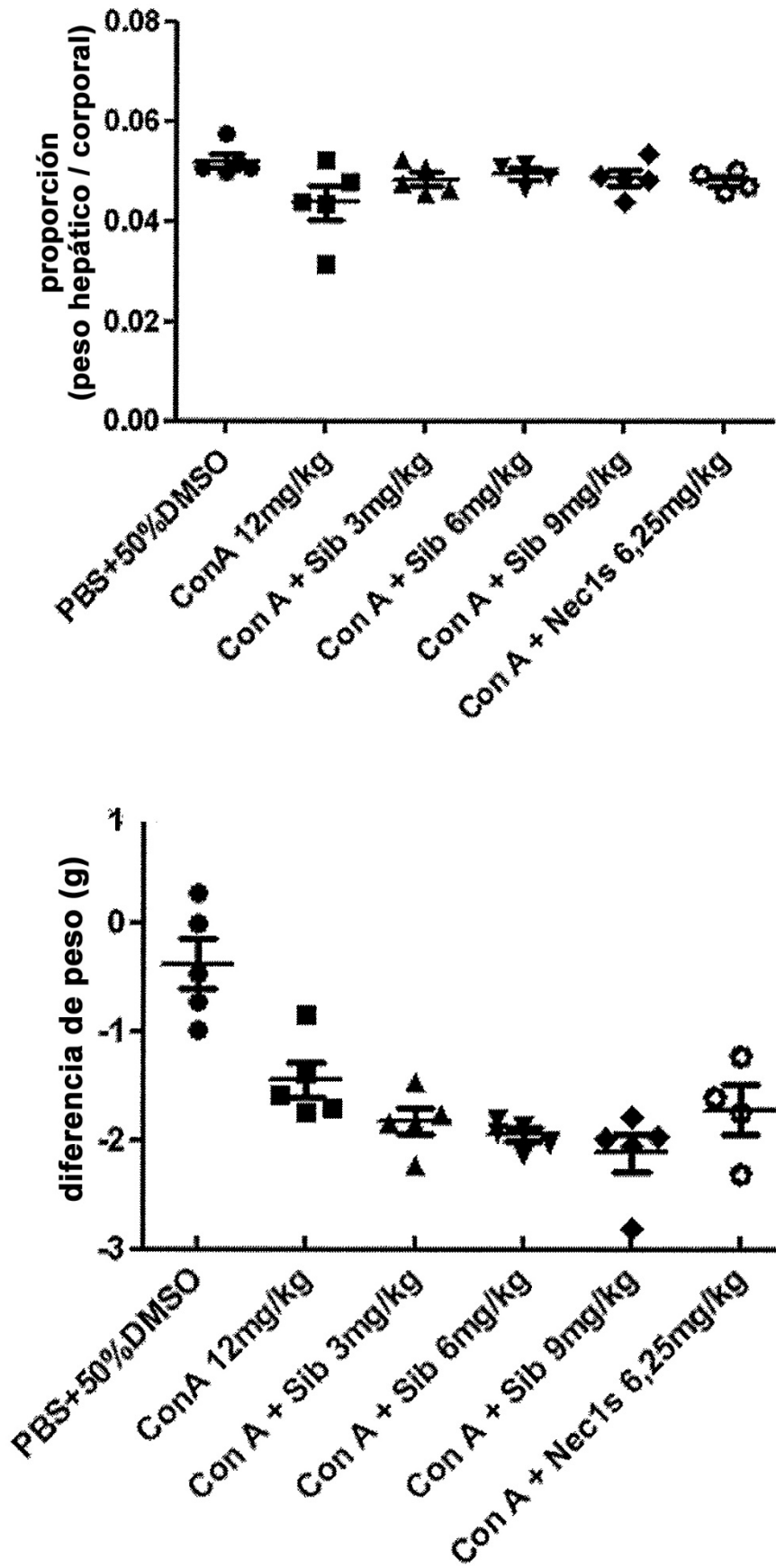


Fig. 14A

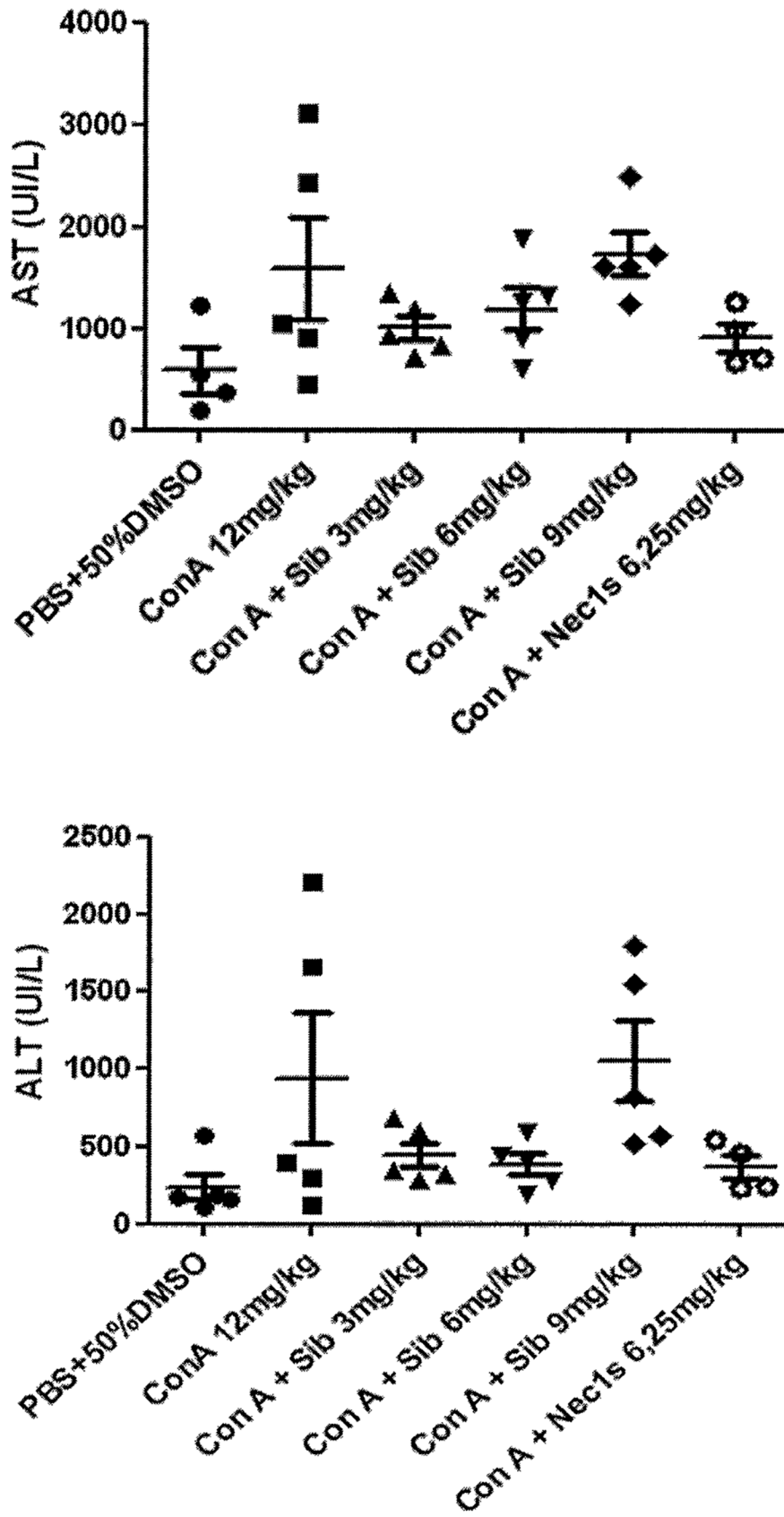


Fig. 14B

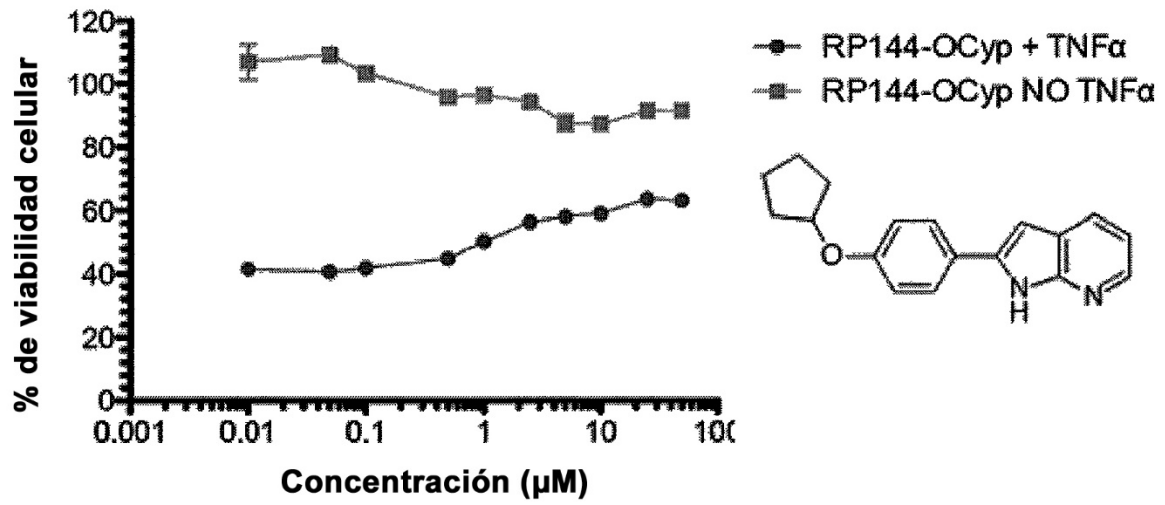


Fig. 15

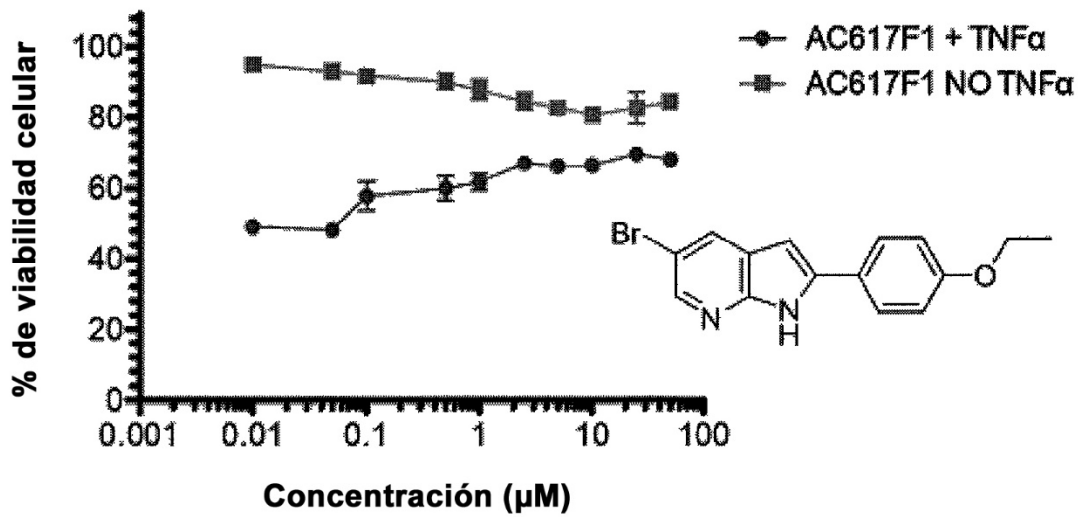


Fig. 16