(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 555 307**

(51) Int. Cl.:

C07D 313/00	(2006.01)	***A61P 11/06***	(2006.01)
A61K 31/335	(2006.01)	***A61P 17/06***	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)	***A61P 17/16***	(2006.01)
C07D 225/06	(2006.01)	***A61P 19/04***	(2006.01)
C07D 407/12	(2006.01)	***A61P 35/00***	(2006.01)
C07D 491/04	(2006.01)	***A61P 37/06***	(2006.01)
C07D 267/00	(2006.01)		
C07D 493/04	(2006.01)		
A61K 31/36	(2006.01)		
A61K 31/395	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2003** **E 03721353 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015** **EP 1507773**

(54) Título: **Compuestos macrocíclicos útiles como agentes farmacéuticos**

(30) Prioridad:

08.03.2002 US 362883 P
14.05.2002 US 380711 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.12.2015

(73) Titular/es:

EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)
6-10, Koishikawa 4-chome, Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088, JP

(72) Inventor/es:

BOIVIN, ROCH; CHIBA, KENICHI; MURAMOTO, KENZO; SHIROTA, HIROSHI; DU, HONG; EGUCHI, YOSHIHITO; FUJITA, MASANORI; GUSOVSKY, FABIAN; GOTO, MASAKI; HARMANGE, JEAN-CHRISTOPHE; INOUE, ATSUSHI; JIANG, YIMIN; KAWADA, MEGUMI; KAWAI, TAKATOSHI; KAWAKAMI, YOSHIYUKI; KIMURA, AKIFUMI; KOTAKE, MAKOTO; KUBOI, YOSHIKAZU; LEMELIN, CHARLES-ANDRÉ; LI, XIANG-YI; MATSUSHIMA, TOMOHIRO; MIZUI, YOSHIHARU; SAKURAI, HIDEKI; CHOW, JESSE; SHEN, YONG-CHUN; SPYVEE, MARK; TANAKA, ISAO; WANG, JOHN (YUAN); YAMAMOTO, SATOSHI; YONEDA, NAOKI y KOBAYASHI, SEIICHI

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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).

ES 2 555 307 T3

DESCRIPCIÓN

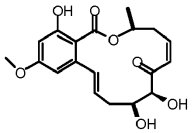
Compuestos macrocíclicos útiles como agentes farmacéuticos.

Reivindicación de prioridad

Esta Solicitud está relacionada con y reivindica prioridad sobre las Solicitudes de Patente Provisionales de los Estados Unidos Núms.: 60/362883, presentada el 8 de marzo de 2002, y 60/380711, presentada el 14 de mayo de 2002.

Antecedentes de la invención

F152 (LL-Z1640-2) (1) es un macrólido afín a la zearalenona, aislado por fermentación en matraz de sacudidas, cuyos extractos brutos inhibían el protozoo ciliado *Tetrahymena pyriformis* (véase, McGaheren et al. J. Org. Chem, 1978, 43, 2339). Se ha comunicado que estudios biológicos iniciales que utilizan este producto natural no poseían actividad alguna particularmente interesante.



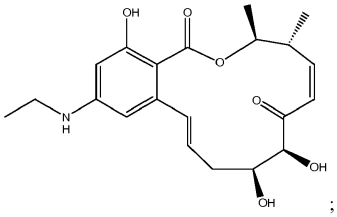
(1)

Después del aislamiento e informe iniciales de este compuesto, varios otros grupos exploraron la posibilidad de la preparación de derivados adicionales y/o exploración ulterior de su actividad biológica. Por ejemplo, científicos de Merck informaron que F152 y ciertos isómeros del mismo inhiben la enzima fosforilante Map/Erk-quinasa (MEK) y por tanto son útiles para el tratamiento de ciertos cánceres y otras enfermedades caracterizadas por la formación de neoangiogénesis (véase, GB 323845). Otros grupos han informado también de derivados de F152 que tienen actividad como inhibidores de la tirosina-quinasa, que son útiles, por ejemplo, para el tratamiento del cáncer y trastornos inflamatorios (véase, EP 606044; WO 00/38674; JP 8-40893; WO 96/13259; 5,728,726, 5,674,892; 5,795,910). Cada uno de estos grupos, sin embargo, era sólo capaz de obtener F152 y derivados del mismo por técnicas de fermentación y por modificaciones del producto natural, respectivamente, y por tanto estaban limitados en el número y tipos de derivados que podían prepararse y evaluarse respecto a actividad biológica. Adicionalmente, aunque F152 y ciertos derivados del mismo han demostrado actividades potentes *in vitro*, estos compuestos son biológicamente inestables (por ejemplo, son susceptibles de isomerización a enona en plasma de ratón y humano), limitando por ello el desarrollo de estos compuestos como agentes terapéuticos para el tratamiento de humanos y otros animales.

Claramente, persiste la necesidad de desarrollar metodologías de síntesis para acceder a y examinar el efecto terapéutico de una diversidad de análogos nuevos de F152, particularmente aquéllos que son inaccesibles realizando modificaciones del producto natural. Sería también particularmente interesante desarrollar nuevos compuestos que exhiban un perfil terapéutico favorable *in vivo* (*v.g.*, que sean seguros y eficaces, reteniendo al mismo tiempo estabilidad en medios biológicos).

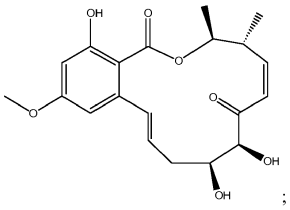
Sumario de la invención

Como se ha expuesto anteriormente, persiste necesidad del desarrollo de nuevos análogos de F152 y la evaluación de su actividad biológica. La presente invención proporciona nuevos compuestos que tienen la estructura:



;

o



;

y sales farmacéuticas, ésteres y sales de ésteres de los mismos, y composiciones farmacéuticas de los mismos, como se describen en esta memoria, compuestos que son útiles como inhibidores de la activación de NF-κB, activación de AP-1 y proteína-quinasas (v.g. MEKK1, MEK1, VEGFr, PDGFr), exhiben actividad antiangiogénica, y/o tienen efecto anti-inflamatorio. Así, estos compuestos son útiles, por ejemplo, para el tratamiento de diversos trastornos que incluyen trastornos inflamatorios y autoinmunes, y trastornos que implican malignidad o angiogénesis aumentada.

Descripción de ciertas realizaciones preferidas de la invención

Reconociendo la necesidad de acceder y explorar ulteriormente la actividad biológica de nuevos análogos de F152, y esta clase de macrociclos en general, la presente invención proporciona nuevos compuestos macrocíclicos, como se describe con mayor detalle en esta memoria, que demuestran estabilidad aumentada y son inhibidores potentes de la activación de NF-κB, la activación de AP-1 y proteína-quinasas (por ejemplo MEKK1, MEK1, PDGFr, VEGFr). Basándose en estos mecanismos de acción, los compuestos inhiben la producción de diversas citocinas pro-inflamatorias y/o inmunológicas tales como TNFα, IL-1, IL-6, IL-8, IL-2 etc., e inhiben también la producción de diversas moléculas pro-inflamatorias por la regulación del camino NF-κB tales como las prostaglandinas producidas por COX-2, ICAM-1 y MMP-1 y 3 etc. Asimismo, los compuestos tienen capacidad de inhibir la proliferación celular bajo la regulación del camino AP-1 por la inhibición de MEK1, Adicionalmente, los compuestos tienen capacidad para inhibir la angiogénesis basada principalmente en las actividades inhibidoras de las quinasas VEGFr y PDGFr. Así, los compuestos de la invención, y las composiciones farmacéuticas de los mismos, son útiles como agentes anti-inflamatorios y/o inmunosupresores para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias, y de la proliferación celular anormal o como agentes antiangiogénesis para el tratamiento del cáncer. En ciertas realizaciones, los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para el tratamiento de enfermedades y trastornos que incluyen, pero sin carácter limitante, sepsis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), esclerosis múltiple, dermatitis atópica, psoriasis, asma, osteoporosis, rinitis alérgica, inflamación ocular, hepatitis, trastornos autoinmunes, lupus eritematoso sistémico, rechazo de aloinjertos/enfermedad de rechazo inverso, diabetes, SIDA, cánceres de tumores sólidos, leucemia, linfomas, linfomas de células B distintos del Hodgkin, leucemia linfocítica crónica (CLL), mieloma múltiples, eccema, urticaria, miastenia grave, púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad cardiovascular (v.g., infarto de miocardio, ateroesclerosis), hepatitis, glomerulonefropatía, nefritis productiva, adenovirus, enfermedades/trastornos del sistema nervioso central (*v.g.,* ictus, enfermedad de Alzheimer, epilepsia) y para el tratamiento de los síntomas de malaria, para citar unos cuantos.

Adicionalmente, se ha demostrado que el fotoenvejecimiento de la piel no deteriorada debido a exposición a radiación UVB es inhibido por administración de un agente que inhibe uno o ambos de los factores de transcripción AP-1 y NF-κB a la piel antes de dicha exposición (véase, por ejemplo, la patente U.S. No.: 5,837,224). Por tanto, los compuestos de inventiva, y composiciones farmacéuticas de los mismos, son útiles en el tratamiento de los trastornos/afecciones relacionados con el fotoenvejecimiento.

Algunos de los compuestos anteriores pueden comprender uno o más centros asimétricos, y por tanto pueden existir en diversas formas isómeras, v.g., estereoisómeros y/o diastereómeros. Así, los compuestos de inventiva composiciones farmacéuticas de los mismos pueden encontrarse en la forma de un enantiómero diastereómero o isómero geométrico individual, o pueden encontrarse en forma de una mixtura de estereoisómeros. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención son compuestos enantioméricamente puros. En algunas otras realizaciones, se proporcionan mixturas de estereoisómeros o diastereómeros.

Además de los compuestos arriba mencionados *per se*, esta invención abarca también composiciones que comprenden uno o más compuestos de la invención y uno o más excipientes o aditivos farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la invención se pueden preparar por cristalización en diferentes condiciones y pueden existir como uno o una combinación de polimorfos que forman parte de esta invención. Por ejemplo, diferentes polimorfos pueden identificarse y/o prepararse utilizando diferentes disolventes, o diferentes mixturas de disolventes para recristalización; por realización de cristalizaciones a diferentes temperaturas; o por utilización de diversos modos de enfriamiento, que van desde enfriamiento muy rápido a muy lento durante las cristalizaciones. Los polimorfos pueden obtenerse también por calentamiento o fusión del compuesto seguido por enfriamiento gradual o rápido. La presencia de polimorfos puede determinarse por espectroscopia NMR de sonda sólida, espectroscopía IR, calorimetría de barrido diferencial, difractograma en polvo de rayos X y/u otras técnicas. Así pues, la presente

invención abarca los compuestos de inventiva, sus derivados, sus formas tautómeras, sus estereoisómeros, sus polimorfos, sus sales farmacéuticamente aceptables, sus solvatos farmacéuticamente aceptables y composiciones farmacéuticamente aceptables que contienen los mismos.

2) Compuestos y Definiciones

Como se ha expuesto anteriormente, esta invención proporciona nuevos compuestos con cierta gama de propiedades biológicas. Los compuestos de esta invención tienen actividades biológicas relevantes para el tratamiento de trastornos inflamatorios e inmunes, fotoenvejecimiento y cáncer. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiples, y asma. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva encuentran utilidad también en la prevención de la restenosis de vasos sanguíneos sujetos son sometidos a traumas tales como angioplastia y aplicación de stents.

Los compuestos de esta invención incluyen los indicados específicamente arriba y descritos en esta memoria, y se ilustran en parte por las diversas clases, subgéneros y especies descritos en otro lugar de esta memoria.

Adicionalmente, la presente invención proporciona sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, o sales de dichos ésteres de los compuestos de inventiva, y métodos de tratamiento de un individuo utilizando estos compuestos, composiciones farmacéuticas de los mismos, o cualquiera de éstos en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Ciertas composiciones farmacéuticas ilustrativas se expondrán con mayor detalle más adelante en esta memoria.

3) Metodología de la Síntesis

Como se ha expuesto anteriormente, la presente invención proporciona nuevos macrociclos. Una vista de conjunto de una síntesis ilustrativa de los compuestos de inventiva se proporciona en la parte de Ejemplos de esta memoria. Se apreciará que los métodos aquí descritos pueden aplicarse a cada uno de los compuestos que se describen en el presente documento y equivalentes de los mismos. Adicionalmente, los reactivos y materiales de partida son bien conocidos por los expertos en la técnica.

4) Usos de Investigación, Formulación y Administración

Conforme a la presente invención, los compuestos de inventiva pueden ensayarse según cualquiera de los ensayos disponibles conocidos en la técnica para identificación de compuestos que tienen actividad antiangiogénica, actividad anti-inflamatoria, actividad inhibidora de proteína-quinasas, actividad inhibidora de la activación de NF-κB y actividad inhibidora de la activación de AP-1, Por ejemplo, el ensayo puede ser celular o no celular, *in vivo* o *in vitro*, en formato de alta- o baja capacidad, etc.

Así, en un aspecto, los compuestos de esta invención que tienen interés particular incluyen aquéllos que:

- exhiben actividad como inhibidores de la activación de NF-κB, activación de AP-1 y proteína-quinasas (v.g., MEKK1, MEK1, VEGFr, PDGr);
- exhiben un efecto antiproliferativo o antiangiogénico sobre tumores sólidos;
- exhiben un efecto anti-inflamatorio sobre linajes de células adecuados mantenidos *in vitro*, o en estudios con animales utilizando un modelo científicamente aceptable;
- son útiles para el tratamiento de trastornos/afecciones relacionados con fotoenvejecimiento; y/o
- exhiben un perfil terapéutico favorable (*v.g.*, seguridad, eficacia, y estabilidad).

Como se ha expuesto anteriormente, algunos de los compuestos descritos en esta memoria exhiben actividad generalmente como inhibidores de la activación de NF-κB activación de AP-1 y proteína-quinasas. Más específicamente, los compuestos de la invención demuestran actividad inmunosupresora y por tanto la invención proporciona adicionalmente un método para tratamiento y de un trastorno inflamatorio o trastornos autoinmunes. Algunos de los compuestos que se describen en esta memoria actúan también como inhibidores del crecimiento de tumores y la angiogénesis. El método implica la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo a un individuo (que incluye, pero sin carácter limitante, un humano o un animal) que se encuentra en necesidad de ello. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva son útiles para el tratamiento de sepsis, glomerulonefropatía, artritis reumatoide (con inclusión de espondilitis anquilosante), artritis psoriásica, osteoartritis, osteoporosis, rinitis alérgica, inflamación ocular, enfermedad intestinal inflamatoria (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), esclerosis múltiple, dermatitis atópica, psoriasis, asma, enfermedad pulmonar inflamatoria, hepatitis, trastornos autoinmunes, lupus eritematoso sistémico, rechazo de aloinjertos/enfermedad de rechazo inverso, diabetes, SIDA, cánceres de tumor sólido, leucemia, linfomas, linfomas de células B distintos del Hodgkin, leucemia linfocítica crónica (CLL), mieloma múltiple, eccema, urticaria, miastenia grave, púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad cardiovascular (v.g., infarto de miocardio, ateroesclerosis), hepatitis, glomerulonefropatía, nefritis productiva, adenovirus, enfermedades/trastornos

del sistema nervioso central (*v.g.,* ictus, enfermedad de Alzheimer, epilepsia) y para el tratamiento de los síntomas de malaria, para citar unos cuantos.

En ciertas otras realizaciones, los compuestos de la invención son útiles para reducción del fotodeterioro, y así, la invención proporciona además un método para tratamiento de trastornos/afecciones relacionados con el fotoenvejecimiento. En ciertas realizaciones ilustrativas, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento y/o la prevención de engrosamiento de la piel, arrugas, pigmentación moteada, superficialidad, laxitud, telangiectasia, léntigos, púrpura y producción fácil de contusiones, atrofia, áreas fibróticas despigmentadas, y finalmente neoplasmas premalignos y malignos. En ciertas otras realizaciones ilustrativas, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento y/o la prevención de arrugas y/o cáncer de piel.

Composiciones Farmacéuticas

Como se ha expuesto anteriormente, esta invención proporciona nuevos compuestos que tienen propiedades biológicas útiles para el tratamiento de trastornos inflamatorios y autoinmunes, fotoenvejecimiento y cáncer. Los compuestos de inventiva encuentran aplicación también en la prevención de restenosis de vasos sanguíneos sometidos a traumatismos tales como angioplastia y aplicación de stents. Conforme a ello, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden uno cualquiera de los compuestos descritos en esta memoria (o un profármaco, sal farmacéuticamente aceptable u otro derivado farmacéuticamente aceptable del mismo), y comprenden opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, estas composiciones comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos adicionales. Alternativamente, puede administrarse un compuesto de esta invención a un paciente que se encuentra en necesidad de ello en combinación con la administración de uno o más agentes terapéuticos distintos. Por ejemplo, agentes terapéuticos adicionales para administración conjunta o inclusión en una composición farmacéutica con un compuesto de esta invención puede ser un agente inmunomodulador (*v.g.*, un agente para el tratamiento de artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, o asma) o agente antiangiogénesis o agente anticáncer aprobado para el tratamiento del cáncer, como se expone con mayor detalle en esta memoria, o puede ser cualquiera de diversos agentes sujetos a aprobación en la Administración de Alimentos y Fármacos que obtengan últimamente aprobación para el tratamiento de un trastornos inmune o cáncer. Se apreciará también que algunos de los compuestos de la presente invención pueden existir en forma libre para tratamiento, o en caso apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos. Conforme a la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin carácter limitante, sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, sales de tales ésteres, o un profármaco u otro aducto o derivado de un compuesto de esta invención que, después de administración a un paciente que se encuentra en necesidad de ello, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe de otro modo en esta memoria, o un metabolito o residuo del mismo.

Como se utiliza en esta memoria, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance de un criterio médico sólido, son adecuadas para uso en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y análogas, y son compatibles con una ratio beneficio/riesgo razonable. Sales farmacéuticamente aceptables de aminas, ácidos carboxílicos, y otros tipos de compuestos, son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S.M. Berge, et al. describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66:1-19 (1977). Las sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos de la invención, o por separado haciendo reaccionar una función base libre o ácido libre con un reactivo adecuado, como se describe generalmente más adelante. Por ejemplo, una función base libre puede hacerse reaccionar con un ácido adecuado. Adicionalmente, donde los compuestos de la invención llevan un resto ácido, sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los mismos pueden incluir sales metálicas tales como sales de metal alcalino, v.g. sales de sodio o potasio; y sales de metal alcalinotérreo, v.g. sales de calcio o magnesio. Ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y no tóxicas son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o por utilización de otros métodos utilizados en la técnica como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canfosulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato, y análogas. Sales representativas de metal alcalino o metal alcalinotérreo incluyen las de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y análogas. Sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, en caso apropiado, cationes no tóxicos amonio, amono cuaternario y amina, formadas utilizando iones de carga opuesta tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquil-sulfonato inferior y aril-sulfonato.

Adicionalmente, como se utiliza en esta memoria, el término "éster farmacéuticamente aceptable" se refiere a ésteres que se hidrolizan *in vivo* e incluyen aquéllos que se descomponen fácilmente en el cuerpo humano para

dejar el compuesto parental o una sal del mismo. Grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, los derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanoicos, alquenoicos, cicloalcanoicos y alcanodioicos, en los cuales cada resto alquilo o alquenilo tiene ventajosamente no más de 6 átomos de carbono. Ejemplos de ésteres particulares incluyen formiatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable, que, como se utiliza en esta memoria, incluye cualquiera y la totalidad de disolventes, diluyentes, u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglomerantes sólidos, lubricantes y análogos, que son adecuados para la forma de dosificación particular deseada. El texto Remington's Pharmaceutical Sciences, Edición 16ª, E.W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) da a conocer diversos portadores utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Excepto en lo que respecta a cualquier medio portador convencional que sea incompatible con los compuestos de la invención, por ejemplo por producir cualquier efecto biológico indeseable o interaccionar de algún otro modo de manera perjudicial con cualquier o cualesquiera otro u otros componentes de la composición farmacéutica, se considera que su uso está dentro del alcance de esta invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin carácter limitante, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetil-celulosa sódica, etil-celulosa y acetato de celulosa; tragacanto pulverizado; malta, gelatina, talco, excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorios, aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de algodón; aceite de cártamo, aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua exenta de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico, y soluciones tampón de fosfato, así como otros agentes lubricantes compatibles no tóxicos tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de desprendimiento, agentes de capa, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar presentes también en la composición, conforme al criterio del formulador.

Usos y Formulaciones de los Compuestos de la Invención

Como se expone con mayor detalle en esta memoria, en general, la presente invención proporciona compuestos útiles para el tratamiento de trastornos inflamatorios o inmunes y el tratamiento del cáncer, particularmente tumores sólidos. Sin pretender quedar ligados por ninguna teoría particular, más generalmente, se ha demostrado que los compuestos de la invención inhiben la actividad de NF-κB y la identificación de NF-κB como factor fundamental en la patogénesis de la inflamación sugieren que los agentes terapéuticos direccionados a NF-κB pueden ser eficaces en trastornos inflamatorios e inmunes (véase, generalmente, NF-κB en Defense and Disease, J. Clin. Investig. 2001, 107, 7). Adicionalmente, se ha demostrado también que ciertos compuestos de la invención inhiben la actividad de tirosina-quinasas receptoras tales como VEGFr y PDGFr *in vitro*, como se describe con mayor detalle en esta memoria, y son útiles para el tratamiento del cáncer, con inclusión de tumores sólidos (véase, Angiogenesis: Potentials for Pharmacology Intervention in the Treatment of Cancer, Cardiovascular Diseases, and Chronic Inflammation, Pharmacological Reviews, 2000, 52, 237).

Como se detalla en la parte de ejemplos de esta memoria, en ensayos para determinar la capacidad de los compuestos para inhibir NF-κB, ciertos compuestos de inventiva exhibían valores CI_{50} menores que 10 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 7,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 5 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 2,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 1 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,75 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,25 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,1 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 750 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 500 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 250 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 100 nM. En otras realizaciones, compuestos ilustrativos exhibían valores CI_{50} menores que 75 nM. En otras realizaciones, compuestos ilustrativos exhibían valores CI_{50} menores que 50 nM.

En otras realizaciones adicionales, se testaron ciertos compuestos respecto a su capacidad para inhibir el crecimiento de linajes de células tumorales *in vitro*. Algunos de estos compuestos exhibían valores CI_{50} menores que 10 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 7,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 5 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 2,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 1 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,75 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben

valores CI_{50} menores que 0,5 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,25 μM. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 0,1 μM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 750 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 500 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 250 nM. En ciertas otras realizaciones, los compuestos de inventiva exhiben valores CI_{50} menores que 100 nM. En otras realizaciones, compuestos ilustrativos exhibían valore CI_{50} menores que 75 nM. En otras realizaciones, compuestos ilustrativos exhibían valore CI_{50} menores que 50 nM.

Como se ha expuesto anteriormente, los compuestos de la invención exhiben actividad inmunomoduladora y exhiben actividad para la inhibición de la angiogénesis por inhibición de las tirosina-quinasas receptoras. Como tales, los compuestos de inventiva son útiles para el tratamiento de una diversidad de trastornos, que incluyen, pero sin carácter limitante, sepsis, glomerulonefropatía, artritis reumatoide (con inclusión de espondilitis anquilosante), artritis psoriásica, osteoartritis, osteoporosis, rinitis alérgica, inflamación ocular, enfermedad intestinal inflamatoria, dermatitis atópica, psoriasis, asma, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad pulmonar inflamatoria, hepatitis, trastornos autoinmunes, diabetes, SIDA, cánceres de tumor sólido, leucemia, linfomas, linfomas de células B distintos del Hodgkin, leucemia linfocítica crónica (CLL), mieloma múltiple, lupus eritematoso sistémico, rechazo de aloinjertos/enfermedad de rechazo inverso, eccema, urticaria, miastenia grave, púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad cardiovascular (v.g., infarto de miocardio, ateroesclerosis), hepatitis, nefritis productiva, adenovirus, enfermedades/trastornos del sistema nervioso central (*v.g.,* ictus, enfermedad de Alzheimer, epilepsia) y para el tratamiento de los síntomas de malaria, para citar unos cuantos. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención son particularmente útiles para el tratamiento de artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, asma y cáncer.

La Artritis Reumatoide es un síndrome crónico caracterizado por inflamación inespecífica, usualmente simétrica, de las articulaciones periféricas, dando potencialmente como resultado una destrucción progresiva de las estructuras articulares y periarticulares, con o sin manifestaciones generalizadas (véase, generalmente, The Merck Manual, 1999, Edición 17ª, Ed. Merck & Co.). Estudios realizados tiempo atrás establecieron que la presencia de células inflamatorias y citocinas pro-inflamatorias, tales como NF-κB, IL-1β son abundantes en el sinovio dañado. Células de revestimiento derivadas de macrófagos incrementadas son prominentes junto con algunos linfocitos y cambios vasculares en la enfermedad precoz. Aunque no existe curación, la reducción de las citocinas proinflamatorias en la circulación (v.g. TNFα, IL-1β) por intervención de agentes biológicos, tales como Enbrel, Remicade o Anakinra ha demostrado eficacia en la reducción de los síntomas y retardo de la progresión de la enfermedad en pruebas clínicas. Así pues, el desarrollo de un agente tal como se describe en esta patente en la modulación de las citocinas proinflamatorias por inhibición de NF-κB podría aportar gran beneficio a los pacientes de RA.

La psoriasis es un trastorno para el cual no existe ninguna terapia curativa, aunque en la mayoría de los casos los ataques agudos pueden controlarse. La psoriasis es una enfermedad crónica recurrente caracterizada por pápulas secas, bien circunscritas, plateadas y escamosas y placas de diversos tamaños, y tradicionalmente se ha atribuido a una proliferación incrementada de células epidérmicas e inflamación dérmica concomitante. La respuesta de la psoriasis al fármaco inmunosupresor ciclosporina sugiere que el factor patógeno primario puede ser inmunológico. La proliferación de células epidérmicas se ha ligado también a la activación de AP-1 por estimulación de lesión, radiación o estrés de la piel (véase, P. Angel et al., "Function and regulation of AP-1 subunits in skin physiology and pathology", Oncogene, 2001, 20:2413-2423; y A. Grandjean-Laquerriere et al., "Relative contribution of NF-kB and AP-1 in the modulation by Curcumin and pyrrolidine dithiocarbamate of the UVB-induced cytokine expression by keratinocytes", Cytokine, 2002, 18(3): 168-177). Regímenes de tratamiento disponibles actualmente para la psoriasis incluyen el uso de lubricantes, queratolíticos, corticosteroides tópicos, luz solar, derivados tópicos de vitamina D, antralina, y antimetabolitos sistémicos (v.g., metotrexato), fármacos inmunosupresores (v.g., ciclosporina, tacrolimus, micofenolato, y mofetil). Sin embargo, no están aprobados todavía fármacos inmunosupresores para el tratamiento de la psoriasis y otros fármacos, con inclusión de corticosteroides, tienen efectos secundarios graves, con inclusión de exacerbaciones o lesiones pustulosas (véase, generalmente, The Merck Manual, 1999, Edición 17ª, Ed. Merck & Co.). Esta invención es por supuesto aplicable a dicha enfermedad así como a una multitud de otras enfermedades afines, tales como artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, para citar sólo unas cuantas.

Se cree también que el asma implica anormalidades inmunológicas y respuestas inflamatorias aumentadas. Análogamente a la psoriasis, no existe terapia curativa alguna. Así pues, es deseable el desarrollo de nuevas terapias tales como esta, preferiblemente seguras y curativas. Esto es aplicable también a trastornos inmunológicos afines tales como rechazo de injertos, SLE, etc.

La angiogénesis, o la formación de nuevos vasos sanguíneos fuera de los capilares pre-existentes, es una secuencia de eventos que es fundamental para muchos procesos fisiológicos y patológicos tales como cáncer, enfermedades isquémicas, e inflamación crónica. Con la identificación de varias moléculas proangiogénicas tales como el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares (VEGF), los factores de crecimiento de fibroblastos (FGFs) (véase, Angiogenesis: Potentials for Pharmacologic Intervention in the Treatment of Cancer, Cardiovascular Diseases, and chronic Inflammation, Pharmacological Reviews, 2000, 52, 253). Así, la inhibición de la actividad de

las tirosina-quinasas receptoras (tales como VEGFr) ha sido objeto de diversas pruebas clínicas en curso. Ciertos compuestos de esta invención exhibían inhibición potente de VEGFr. Así pues, es de esperar dicha aplicación.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos para el tratamiento de trastornos inmunes y cáncer que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, como se describe en esta memoria, a un individuo que se encuentra en necesidad de ello. En ciertas realizaciones, los compuestos de inventiva son útiles para el tratamiento de artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, asma y cáncer. Se apreciará que los compuestos y composiciones, conforme al método de la presente invención, pueden administrarse utilizando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración eficaz para el tratamiento de trastornos inflamatorios, que incluyen, pero sin carácter limitante, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, asma y cáncer. Así, la expresión "cantidad eficaz" como se utiliza en esta memoria, se refiere a una cantidad suficiente de agente para inhibir el crecimiento de células tumorales, o se refiere a una cantidad suficiente para reducir los efectos de la artritis reumatoide, psoriasis, asma y cáncer (o cualquier respuesta o trastorno inflamatorio). La cantidad exacta requerida variará de individuo a individuo, dependiendo de la especie, edad, y estado general del individuo, la gravedad de las enfermedades, el agente anticáncer particular, su modo de administración, y análogos. Los compuestos de la invención se formulan preferiblemente en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma unitaria de dosificación", como se utiliza en esta memoria, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente terapéutico apropiada para el paciente a tratar. Se comprenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidido por el médico encargado del caso dentro del alcance de un criterio médico sólido. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración, y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidencia con el compuesto específico empleado; y factores análogos bien conocidos en las técnicas médicas (véase, por ejemplo, Goodman and Gilman's, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", décima edición, A. Gilman, J.Hardman y L. Limbird, eds., McGraw-Hill Press, 155-173, 2001).

Es sabido que los factores de transcripción AP-1 y NF-κB se activan en células de mamífero expuestas a luz UV. Se ha demostrado también que la inhibición de quinasa MAB/quinasa ERK1 (MEK-1) inhibía significativamente la activación de ERK inducida por UVB (Véase, Chen et al., "Activation of p38 MAP kinase and ERK are required for ultraviolet-B induced c-fos gene expression in human keratinocytes", Oncogene, 18:7469-7476, 1999). Conforme a ello, sin pretender quedar ligados por ninguna teoría particular, la Solicitante propone que los compuestos de la invención pueden encontrar uso en el tratamiento de enfermedades de la piel causadas por exposición a UVB. Para referencias adicionales a quinasas MAP y fotoenvejecimiento, véase Li et al., "Rays and arrays: the transcriptional program in the response of human epidermal keratotinocytes to UVB illumination", The FASEB Journal, artículo urgente 10,1096/fj.01-01172fje, publicado en línea el 17 de septiembre de 2001; Patente U.S. Núm.: 5,837,224 y Solicitud de Patente U.S. Núm.: 20020106339.

Así pues, la invención proporciona composiciones para prevención o tratamiento del fotodeterioro inducido por UVB que comprenden un compuesto de inventiva; y un portador farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, el compuesto de inventiva está presente en una cantidad eficaz para inhibir la quinasa Map/Erk. En ciertas otras realizaciones, las composiciones de inventiva comprenden adicionalmente un ingrediente cosmético. En ciertas realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un perfume. En ciertas otras realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un filtro solar. En ciertas realizaciones, las composiciones de inventiva existen como formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables.

La presente invención abarca adicionalmente métodos para proporcionar protección contra el fotodeterioro inducido por UVB a largo plazo a un individuo, comprendiendo dicho método: suministrar al individuo que se encuentra en necesidad de ello una composición que comprende un compuesto de inventiva; y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, la composición se administra por vía tópica. La presente invención abarca adicionalmente métodos de aporte de protección contra el fotodeterioro inducido por UVB a largo plazo a un individuo, comprendiendo dicho método: proporcionar al individuo una composición que comprende un compuesto de inventiva; y proporcionar al individuo instrucciones para uso de dicha composición a fin de prevenir el fotodeterioro. En ciertas realizaciones, la composición se formula de tal manera que la misma puede administrarse por vía tópica. En ciertas realizaciones, el compuesto de inventiva está presente en una cantidad eficaz para inhibir la quinasa Map/Erk. En ciertas realizaciones, las instrucciones comprenden orientaciones para aplicar la composición a la piel antes de exposición al sol. En ciertas realizaciones ilustrativas, la composición comprende además un ingrediente cosmético. En ciertas realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un perfume. En ciertas otras realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un filtro solar. En cierta realización se proporciona un método para tratamiento y/o prevención de engrosamiento de la piel, arrugas, pigmentación moteada, superficialidad, laxitud, telangiectasia, léntigos, púrpura y producción fácil de contusiones, atrofia, áreas fibróticas despigmentadas, y finalmente neoplasmas premalignos y malignos. En ciertas otras realizaciones ilustrativas, la presente invención proporciona un método para el tratamiento y/o la prevención de arrugas y/o cáncer de piel.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona kits para prevención del fotodeterioro inducido por UVB a largo plazo en un individuo, comprendiendo dicho kit: una composición que comprende un compuesto de inventiva; e instrucciones para utilización de la composición a fin de prevenir el fotodeterioro. En ciertas realizaciones, la composición se formula para administración tópica. En ciertas realizaciones, el compuesto de inventiva está presente en una cantidad eficaz para inhibir la quinasa Map/Erk. En ciertas realizaciones, las instrucciones comprenden orientaciones para aplicar la composición a la piel antes de exposición al sol. En ciertas realizaciones ilustrativas, la composición comprende además un ingrediente cosmético. En ciertas realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un perfume. En ciertas otras realizaciones ilustrativas, el ingrediente cosmético es un filtro solar.

Adicionalmente, después de la formulación con un portador farmacéuticamente aceptable apropiado en una dosis deseada, las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar a humanos y otros animales por vías oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (tal como mediante polvos, ungüentos, cremas o gotas), por vía bucal, como pulverización oral o nasal, o análogas, dependiendo de la gravedad de la infección de que se trate. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse a niveles de dosificación de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, desde aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, o desde aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del individuo por día, una o más veces al día, a fin de obtener el efecto terapéutico deseado. Se apreciará también que se pueden administrar a un individuo dosis menores que 0,001 mg/kg o mayores que 50 mg/kg (por ejemplo 50-100 mg/kg). En ciertas realizaciones, los compuestos se administran por vía oral o parenteral.

Formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero sin carácter limitante, emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsificadores tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de algodón, cacahuete, maíz, germen de trigo, oliva, ricino, y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilen-glicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mixturas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, y agentes perfumantes.

Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas estériles inyectables conforme a la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación estéril inyectable puede ser también una solución, suspensión o emulsión estéril inyectable en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, solución U.S.P. y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión aceites fijos estériles. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo no irritante que incluya mono- o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, se utilizan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o por incorporación de agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su utilización.

Con objeto de prolongar el efecto de un fármaco, a menudo es deseable ralentizar la absorción del fármaco por inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede realizarse por el uso de una suspensión líquida o material cristalino o amorfo con solubilidad escasa en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue por disolución o suspensión del fármaco en un vehículo oleoso. Formas de depósito inyectables se fabrican por formación de matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la ratio de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Formulaciones de depósito inyectables se preparan también por captura del fármaco en liposomas o microemulsiones, que son compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que se pueden preparar por mezcladura de los compuestos de esta invención con excipientes adecuados o portadores no irritantes tales como manteca de cacao, polietilen-glicol o ceras de supositorios que son sólidas a la temperatura ambiente pero líquidas a la temperatura corporal y por consiguiente fundirán en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo está mezclado con al menos un excipiente inerte o portador farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) cargas o extendedores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglomerantes tales como, por ejemplo,

carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o mandioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio, e) agentes retardadores de la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonítica, e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilen-glicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mixturas de los mismos. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación puede comprender también agentes tampón.

Pueden emplearse también composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina con relleno blando y duro utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilen-glicoles de peso molecular alto, y análogos. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden prepararse con capas y envolturas tales como capas entéricas y otras capas bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Las mismas pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden tener también una composición tal que liberen el o los ingredientes activos sólo, o preferiblemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones de imbibición que pueden utilizarse incluyen sustancias polímeras y ceras. Composiciones sólidas de tipo similar pueden emplearse también como cargas en cápsulas gelatina con relleno blando y duro utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilen-glicoles de peso molecular alto y análogos.

Los compuestos activos pueden encontrarse también en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado arriba. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden prepararse con capas y envolturas tales como capas entéricos, capas controladores de la liberación y otras capas bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede estar mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa y almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender también, como en la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, v.g., lubricantes para fabricación de tabletas y otros adyuvantes de fabricación de tabletas tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender también agentes tampón. Las mismas pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden tener también una composición tal que liberen el o los ingredientes activos sólo, o preferentemente, en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones incrustantes, que pueden utilizarse, incluyen sustancias polímeras y ceras.

La presente invención abarca formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de inventiva. El término "formulación tópica farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en esta memoria, significa cualquier formulación que es farmacéuticamente aceptable para administración intradérmica de un compuesto de la invención por aplicación de la formulación a la epidermis. En ciertas realizaciones de la invención, la formulación tópica comprende un sistema portador. Portadores farmacéuticamente eficaces incluyen, pero sin carácter limitante, disolventes (v.g., alcoholes, polialcoholes, agua), cremas, lociones, ungüentos, aceites, emplastos, liposomas, polvos, emulsiones, microemulsiones, y soluciones tamponadas (v.g., solución salina hipotónica o tamponada) o cualquier otro portador conocido en la técnica para administración de productos farmacéuticos por vía tópica. Un listado más completo de portadores conocidos en la técnica es proporcionado por textos de referencia que son estándar en la técnica, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Edición 16ª, 1980 y Edición 17ª, 1985, publicadas ambas por Mack Publishing Company, Easton, Pa.

En ciertas otras realizaciones, las formulaciones tópicas de la invención pueden comprender excipientes. Cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable conocido en la técnica puede utilizarse para preparar las formulaciones tópicas de inventiva farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de excipientes que pueden incluirse en las formulaciones tópicas de la invención incluyen, pero sin carácter limitante, conservantes, antioxidantes, humidificantes, emolientes, agentes tampón, agentes solubilizantes, otros agentes de penetración, protectores de la piel, surfactantes, y propelentes, y/o agentes terapéuticos adicionales utilizados en combinación con el compuesto de inventiva. Conservantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, alcoholes, aminas cuaternarias, ácidos orgánicos, parabenes, y fenoles. Antioxidantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, ácido ascórbico y sus ésteres, bisulfito de sodio, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, tocoferoles, y agentes quelantes como EDTA y ácido cítrico. Humidificantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, glicerina, sorbitol, polietilen-glicoles, urea, y propilen-glicol. Agentes tampón adecuados para uso con la invención incluyen, pero sin carácter limitante, tampones de ácido cítrico, clorhídrico, y láctico. Agentes solubilizantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, cloruros de amonio cuaternario, ciclodextrinas, benzoato de bencilo, lecitina, y polisorbatos. Protectores de la piel adecuados que pueden utilizarse en las formulaciones tópicas de la invención incluyen, pero sin carácter limitante, aceite de vitamina E, alantoína, dimeticona, glicerina, petrolatum, y óxido de cinc.

En ciertas realizaciones, las formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables de la invención comprenden al menos un compuesto de la invención y un agente mejorador de la penetración. La elección de la formulación tópica dependerá de varios factores, que incluyen la afección a tratar, las características fisicoquímicas del compuesto de inventiva y otros excipientes presentes, su estabilidad en la formulación, el equipo de fabricación disponible, y las limitaciones de costes. Como se utiliza en esta memoria, el término "agente mejorador de la penetración" significa un

agente capaz de transportar un compuesto farmacológicamente activo a través del stratum corneum y a la epidermis o dermis, preferiblemente, con poca o ninguna absorción sistémica. Han sido evaluados una gran diversidad de compuestos en cuanto a su eficacia en el aumento de la velocidad de penetración de fármacos a través de la piel. Véase, por ejemplo, Percutaneous Penetration Enhancers, Maibach H. I. y Smith H. E. (eds.), CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. (1995), que revisa el uso y ensayo de diversos mejoradores de la penetración de la piel, y Buyuktimkin et al., Chemical Means of Transdermal Drug Permeation Enhancement in Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Gosh T. K., Pfister W. R., Yum S. I. (Eds.), Interpharm Press Inc., Buffalo Grove, I11, (1997). En ciertas realizaciones ilustrativas, agentes de penetración para uso con la invención incluyen, pero sin carácter limitante, triglicéridos (*v.g.*, aceite de soja), composiciones de aloe (*v.g.*, gel de aloe-vera), alcohol etílico, alcohol isopropílico, octoilfenilpolietilen-glicol, ácido oleico, polietilen-glicol 400, propilen-glicol, N-decilmetilsulfóxido, ésteres de ácidos grasos (*v.g.*, miristato de isopropilo, laurato de metilo, monooleato de glicerol, y monooleato de propilen-glicol) y N-metil-pirrolidona.

En ciertas realizaciones, las composiciones pueden encontrase en la forma de ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. En ciertas realizaciones ilustrativas, las formulaciones de las composiciones conforme a la invención son cremas, que pueden contener adicionalmente ácidos grasos saturados o insaturados tales como ácido esteárico, ácido palmítico, ácido oleico, ácido palmitoleico, alcoholes cetílicos u oleílicos, siendo particularmente preferido ácido esteárico. Las cremas de la invención pueden contener también un surfactante no iónico, por ejemplo, polioxi-40-estearato. En ciertas realizaciones, el componente activo se mezcla en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes o tampones necesarios que puedan requerirse. Se contempla también que están dentro del alcance de esta invención soluciones oftálmicas, gotas para los oídos o gotas oftálmicas. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Tales formas de dosificación se fabrican por disolución o dispensación del compuesto en el medio apropiado. Como se ha expuesto anteriormente, pueden utilizarse también agentes mejoradores de la penetración para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana controladora de la velocidad o por dispersión del compuesto en una matriz o gel de polímero.

En ciertas realizaciones, después de la aplicación de la formulación tópica a la epidermis, el área puede cubrirse con un apósito. El término "apósito", como se utiliza en esta memoria, significa una capa diseñada para proteger una formulación de fármaco aplicada localmente. "Apósito" incluye capas tales como un vendaje, que puede ser poroso o no poroso y diversas capas inertes, v.g., una envoltura de film plástico u otro film no absorbente. El término "apósito" abarca también capas no tejidos o tejidos, particularmente capas elastómeros, que permiten el paso de calor y vapores. Estos apósitos permiten el enfriamiento del área tratada, lo cual proporciona mayor comodidad.

En ciertas realizaciones ilustrativas, las formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables de la invención están contenidas en un parche que se aplica adyacentemente al área de la piel a tratar. Como se utiliza en esta memoria, un "parche" comprende al menos una formulación tópica y una capa de capa, de tal modo que el parche puede estar localizado sobre el área de piel a tratar. Preferiblemente, pero no de modo necesario, el parche está diseñado para maximizar el suministro de fármaco a través del stratum corneum y a la epidermis o dermis, reducir el tiempo de retardo, promover absorción uniforme, y/o reducir el frotamiento mecánico. En ciertas realizaciones, cuando el uso propuesto comprende el tratamiento de una afección de la piel (*v.g.*, psoriasis), el parche está diseñado para minimizar la absorción en el sistema circulatorio. Preferiblemente, los componentes del parche se asemejan a las propiedades viscoelásticas de la piel y se adaptan a la piel durante el movimiento para prevenir cizalladura y desestratificación excesivas. Ventajas de un parche que comprende la formulación tópica de la invención sobre los métodos de administración convencionales incluyen (i) que la dosis está controlada por la superficie externa del parche, (ii) velocidad de administración constante, (iii) mayor duración de acción (posibilidad de adherirse a la piel durante 1, 3, 7 días o más), (iv) aceptación mejorada por el paciente, (v) dosificación no invasiva, y (vi) acción reversible (*es decir*, el parche puede retirarse simplemente).

En ciertas realizaciones, un parche adecuado para uso con la invención contiene al menos: (1) una capa de respaldo y (2) un portador formulado con un compuesto de la invención. Ejemplos de sistemas de parche adecuados para la práctica de la invención incluyen, pero sin carácter limitante, parches de tipo matriz; parches de tipo depósito; parches de tipo fármaco incorporado en adhesivo multiestratificado; y parches de tipo monolítico de fármaco incorporado en adhesivo. Véase, por ejemplo Ghosh, T. K.; Pfister, W. R.; Yum, S. I. Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Interpharm Press, Inc. p. 249-297. Estos parches son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente por regla general.

El parche matriz comprende una matriz que contiene un compuesto de inventiva, una superposición de film adhesivo de respaldo, y preferiblemente, pero no de modo necesario, un revestimiento separable. En algunos casos, puede ser necesario incluir una capa impermeable a fin de minimizar la migración del fármaco al film de respaldo (*v.g.*, Patente U.S. No. 4,336,243). En ciertas realizaciones, la matriz que contiene el compuesto de inventiva está fijada a la piel por el adhesivo superpuesto. Ejemplos de materiales y matriz adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, polímeros lipófilos, tales como poli(cloruro de vinilo), polidimetilsiloxanos, y polímeros hidrófilos como polivinilpirrolidona, poli(alcohol vinílico), hidrogeles basados en gelatina, o mixturas polivinilpirrolidona/poli(óxido de etileno). Revestimientos separables adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, films poliéster oclusivos,

opacos, o transparentes con una capa delgado de revestimiento separable de contacto (*v.g.*, silicona-fluorosilicona), y polímeros basados en perfluorocarbonos.

El diseño del parche de tipo depósito se caracteriza por un film de respaldo recubierto con un adhesivo, y un compartimiento de depósito que comprende una formulación de fármaco, preferiblemente en la forma de una solución o suspensión, que está separado de la piel por una membrana semipermeable (*v.g.*, Patente U.S. No. 4,615,699). La capa de respaldo recubierta con adhesivo se extiende alrededor de los límites del depósito para proporcionar un cierre hermético concéntrico con la piel y retener el depósito adyacente a la piel.

El diseño del parche monolítico de fármaco incorporado en adhesivo se caracteriza por la inclusión de la formulación de fármaco en la capa de adhesivo en contacto con la piel, un film de respaldo y preferiblemente un revestimiento separable. El adhesivo funciona tanto para liberar el compuesto como para adherir la matriz del compuesto a la piel. El sistema de fármaco incorporado en adhesivo no requiere una superposición de adhesivo y por tanto el tamaño del parche se minimiza. Además, los parches de tipo fármaco incorporado en adhesivo son delgados y cómodos (*v.g.*, Patente U.S. No. 4,751,087).

El diseño del parche de fármaco incorporado en adhesivo multiestratificado incorpora además una membrana semipermeable adicional entre dos capas distintas de fármaco incorporado en adhesivo o capas múltiples de fármaco incorporado en adhesivo bajo un solo film de respaldo (Peterson, T. A. y Dreyer, S. J. Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 21: 477-478).

Membranas semipermeables, útiles con el parche de depósito o multiestratificado incluyen films delgados no porosos de etileno-acetato de vinilo o films delgados microporosos de polietileno empleados en parches de depósito microestratificados en estado sólido.

Adhesivos para uso con los parches de tipo fármaco incorporado en adhesivo son bien conocidos en la técnica y un profesional experto en la técnica relevante conocería el modo de seleccionar un adhesivo adecuado para el uso propuesto. Ejemplos de adhesivos incluyen, pero sin carácter limitante, poliisobutilenos, siliconas, y acrílicos. Preferiblemente, los adhesivos pueden funcionar satisfactoriamente en una amplia gama de condiciones, tales como humedad alta y baja, baño, sudor, etc. Preferiblemente, el adhesivo es una composición basada en caucho natural o sintético; un poliacrilato tal como poli(acrilato de butilo), poli(acrilato de metilo), poli-acrilato de 2- etilhexilo; poli(acetato de vinilo); polidimetilsiloxanos; adhesivos acrílicos de contacto, por ejemplo adhesivos Durotak.RTM. (*v.g.*, Durotak.RTM.2052, National Starch and Chemicals) o hidrogeles (v.g., polivinilpirrolidona de peso molecular alto y poli(óxido de etileno) oligómero. El adhesivo puede contener un espesante, tal como un espesante de sílice (*v.g.*, Aerosil, Degussa, Ridgefield Park, N.J.) o un reticulador tal como acetilacetonato de aluminio.

Los films de respaldo pueden ser oclusivos o permeables y pueden derivarse de polímeros sintéticos como aceites poliolefínicos tales como poliésteres de aceites poliolefínicos, polietileno, poli(cloruro de vinilo), y poliuretano o de materiales naturales como algodón, lana, etc. Los films de respaldo oclusivos, tales como poliésteres sintéticos, dan como resultado la hidratación de las capas externas del stratum corneum, mientras que los respaldos no oclusivos permiten que el área transpire (*es decir*, favorecen la transmisión de vapor de agua desde la superficie de la piel).

La selección de la dosis apropiada para el sitio de aplicación es una consideración importante. La velocidad de administración intradérmica del compuesto desde la formulación tópica o parche es función de la permeabilidad de la piel, y se ha demostrado que la permeabilidad de la piel varía entre los sitios anatómicos dependiendo del espesor del stratum corneum. Por ejemplo, la permeabilidad, en general, aumenta en el orden desde el arco plantar del pie, parte lateral del tobillo, palma, antebrazo ventral, antebrazo dorsal, espalda, tórax, muslos, abdomen, cuero cabelludo, axila, frente, y escroto (Wester, R. C. y Maibach, H. I. (1989) Regional variation in Percutaneous Absorption: In Percutaneous Absorption, Mechanism, Methodology, Drug Delivery, 2ª edición, Eds. R. L. Bronaugh y H. I. Maibach, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp. 111-119). Típicamente, las dosis y la frecuencia de dosificación serán determinadas por un profesional médico cualificado.

Se apreciará también que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse y emplearse en terapias de combinación, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticas pueden formularse con o administrarse conjuntamente con, antes o subsiguientemente, uno o más agentes terapéuticos distintos o procedimientos médicos deseados. La combinación particular de terapias (tratamientos o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los tratamientos terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a alcanzar. Se apreciará también que las terapias empleadas pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto de inventiva puede administrarse conjuntamente con otro agente inmunomodulador, agente anticáncer o agente útil para el tratamiento de la psoriasis), o pueden alcanzar efectos diferentes (v.g., control de cualesquiera efectos adversos).

Por ejemplo, otras terapias o agentes anticáncer que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de inventiva de la presente invención incluyen cirugía, radioterapia (en sólo unos cuantos ejemplos, radiación γ, radioterapia con haces neutrónicos, radioterapia con haces electrónicos, terapia de protones, braquiterapia, e isótopos radiactivos sistémicos, para citar unos cuantos), terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica

(interferones, interleucinas, y factor de necrosis tumoral (TNF) para citar unos cuantos), hipertermia y crioterapia, agentes para atenuar cualesquiera efectos adversos (v.g., antieméticos), y otros fármacos quimioterapéuticos aprobados con inclusión, pero sin carácter limitante, de fármacos alquilantes (mecloretamina, clorambucil, ciclofosfamida, melfalán, ifosfamida), antimetabolitos (metotrexato), antagonistas de purina y antagonistas de pirimidina (6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, citarabil, gemcitabina), venenos del huso mitótico (vinblastina, vincristina, vinorelbina, paclitaxel), podofilotoxinas (etoposido, irinotecán, topotecán), antibióticos (doxorrubicina, bleomicina, mitomicina), nitrosoureas (carmustina, lomustina), iones inorgánicos (cisplatino, carboplatino), enzimas (asparaginasa), y hormonas (tamoxifeno, leuprolida, flutamida, y megestrol), para citar unos cuantos. Para una exposición más exhaustiva de terapias actualizadas del cáncer, véase The Merck Manual, edición 17ª, 1999. Véanse también el sitio de Internet del National Cancer Institute (CNI) (www.nci.nih.gov) y el sitio de Internet de la Food and Drug Administration (FDA) para una lista de los fármacos oncológicos aprobados por la FDA (www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe).

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden además uno o más ingredientes terapéuticamente activos adicionales (v.g., quimioterapéuticos y/o paliativos). Para los propósitos de la invención, el término "*paliativo*" se refiere a un tratamiento que está orientado al alivio de los síntomas de una enfermedad y/o efectos secundarios de un régimen terapéutico, pero no es curativo. Por ejemplo, el tratamiento paliativo abarca calmantes, medicaciones antináusea y fármacos anti-vómito. Adicionalmente, quimioterapia, radioterapia y cirugía pueden utilizarse todas ellas paliativamente (es decir, para reducir los síntomas sin llegar a la curación; *v.g.*, para reducción de los tumores y disminución de la tensión, hemorragia, dolor y otros síntomas del cáncer).

En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de la psoriasis, y las composiciones farmacéuticas que contienen los mismos pueden administrarse en combinación con cualquiera de las terapias o agentes terapéuticos antipsoriásicos conocidos en la técnica. Por ejemplo, terapias o agentes antipsoriásicos que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de inventiva de la presente invención incluyen tratamiento con luz ultravioleta (*v.g.*, luz solar), lubricantes, queratolíticos, emolientes (*v.g.*, Crema Acuosa, E45, y ungüento emulsionante), mercurio amoniacal, análogos de vitamina D tópicos (*v.g.*, Calcipotriol (Dovonex), Tacalcitol (Curatoderm)), ditranol (*v.g.*, Ditrocream y Miconal), alquitrán (*v.g.*, Alphosyl, antralina), esteroides tópicos (*v.g.*, corticosteroides, halobetasol), retinoides tópicos (*v.g.*, Zorac, Tarzarotene), antimetabolitos sistémicos (*v.g.*, metotrexato oral), fármacos inmunosupresores (*v.g.*, ciclosporina oral, tacrolimus, micofenolato, y mofetil) y retinoides orales (*v.g.*, acitretina).

EJEMPLOS

Los compuestos de esta invención y su preparación pueden comprenderse más completamente por los ejemplos que ilustran algunos de los procesos por los cuales se preparan o utilizan estos compuestos. Se apreciará, sin embargo, que estos ejemplos no limitan la invención. Variaciones de la invención, conocidas actualmente o que puedan desarrollarse en el futuro, se consideran comprendidas dentro del alcance de la presente invención como se describe en esta memoria y como se reivindica más adelante.

1) Descripción General de los Métodos de Síntesis:

El profesional experto posee una bibliografía bien establecida de recurso a la Química de los macrólidos, en combinación con la información contenida en esta memoria, para orientación acerca de estrategias de síntesis, grupos protectores, y otros materiales y métodos útiles para la síntesis de los compuestos de esta invención.

Las diversas referencias citadas en esta memoria proporcionan información de fondo útil acerca de la preparación de compuestos similares a los compuestos de inventiva descritos en esta memoria o compuestos intermedios relevantes, así como información acerca de formulación, usos, y administración de tales compuestos que pueden ser de interés.

Además, se orienta al profesional experto hacia el guiamiento y los ejemplos específicos proporcionados en este documento con relación a diversos compuestos ilustrativos y compuestos intermedios de los mismos.

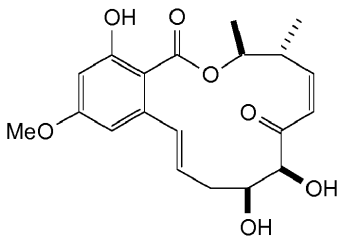
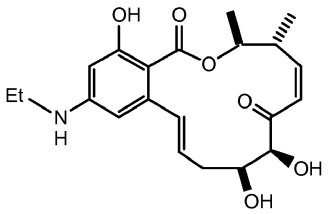
Los compuestos de esta invención y su preparación pueden comprenderse más completamente por los ejemplos que ilustran algunos de los procesos por los cuales se preparan o utilizan estos compuestos. Se apreciará, sin embargo, que estos ejemplos no limitan la invención. Se considera que variaciones de la invención, conocidas actualmente o que puedan desarrollarse en el futuro, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención como se describe en esta memoria y como se reivindica más adelante.

Con arreglo a la presente invención, pueden utilizarse cualesquiera técnicas disponibles para fabricar o preparar los compuestos de inventiva o composiciones que incluyen los mismos. Por ejemplo, puede utilizarse una diversidad de métodos de síntesis en fase de solución tales como los expuestos en detalle más adelante. Alternativa o adicionalmente, los compuestos de inventiva se pueden preparar utilizando cualquiera de una diversidad de técnicas combinatorias, síntesis paralelas y/o métodos de síntesis en fase sólida conocidos en la técnica.

Como se describe más adelante, se apreciará que una diversidad de compuestos de inventiva pueden sintetizarse conforme a los métodos aquí descritos. Los materiales de partida y reactivos utilizados en la preparación de estos compuestos, o bien están disponibles de suministradores comerciales tales como Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), Bachem (Torrance, CA), Sigma (St. Louis, MO), o se preparan por métodos bien conocidos por una persona con experiencia ordinaria en la técnica siguiendo procedimientos descritos en referencias tales como Fieser and Fieser 1991, "Reagents for Organic Synthesis", vols 1-17, John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1991; Rodd 1989 "Chemistry of Carbon Compounds", vols. 1-5 and supps, Elsevier Science Publishers, 1989; "Organic Reactions", vols 1-40, John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1991; marzo 2001, "Advanced Organic Chemistry", 5ª edición. John Wiley and Sons, Nueva York, NY; y Larock 1990, "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations", 2ª edición, VCH Publishers. Estos esquemas son meramente ilustrativos de algunos métodos por los cuales se pueden sintetizar los compuestos de esta invención, y diversas modificaciones de estos esquemas pueden hacerse y serán ideadas por una persona con experiencia ordinaria en la técnica que tiene relación con esta descripción.

Los materiales de partida, compuestos intermedios, y compuestos de esta invención pueden aislarse y purificarse utilizando técnicas convencionales, que incluyen filtración, destilación, cristalización, cromatografía, y análogas. Los mismos pueden caracterizarse utilizando métodos convencionales, que incluyen constantes físicas y datos espectrales.

A continuación se enumeran compuestos de la invención, haciéndose referencia a los mismos por el número de compuesto que se indica.

ER803064	
ER806201	

Procedimientos Generales de Reacción:

A no ser que se mencione específicamente, las mixturas de reacción se agitaron utilizando una varilla agitadora accionada magnéticamente. Atmósfera inerte se refiere a argón seco o nitrógeno seco. Las reacciones se monitorizaron por cromatografía en capa delgada, por resonancia magnética nuclear de protones (NMR) o por cromatografía líquida a alta presión (HPLC), de una muestra de la mixtura de reacción tratada adecuadamente.

A continuación se enumeran abreviaturas utilizadas para algunos reactivos orgánicos comunes a que se hace referencia en esta memoria:

m-CPBA:	Ácido *meta*-cloroperbenzoico
DDQ:	2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DEAD:	Azodicarboxilato de dietilo
DIBAL-H:	Hidruro de diisobutil-aluminio
DMAP:	*N,N*-Dimetilaminopiridina
DMF:	*N,N*-dimetilformamida
HPMA:	Hexametilfosforamida

LDA:	Diisopropil-amiduro de litio
LiHMDS:	Bis-(trimetilsilil)-amiduro de litio
PCC:	Clorocromato de piridinio
TBAF:	Fluoruro de tetrabutilamonio
THF:	Tetrahidrofurano

Procedimientos Generales de Tratamiento:

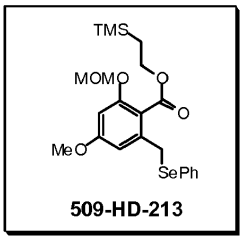
A no ser que se menciones específicamente, las mixturas de reacción se enfriaron a la temperatura ambiente o inferior, y se atemperaron luego, en caso necesario, con agua o con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Los productos deseados se extrajeron por reparto entre agua y un disolvente adecuado inmiscible con el agua (v.g., acetato de etilo, diclorometano, éter dietílico). Los extractos que contenían el producto deseado se lavaron adecuadamente con agua seguida por una solución saturada de salmuera. En ocasiones en las que se creía que el extracto que contenía el producto contenía oxidantes residuales, el extracto se lavó con una solución al 10% de sulfito de sodio en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, antes del procedimiento de lavado arriba mencionado. En ocasiones en las se creía que el extracto que contenía el producto contenía ácidos residuales, el extracto se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, antes del procedimiento de lavado arriba mencionado (excepto en aquellos casos en los que el producto deseado propiamente dicho tenía carácter ácido). En ocasiones en las que se creía que el extracto que contenía el producto contenía bases residuales, el extracto se lavó con solución acuosa al 10% de ácido cítrico, antes del procedimiento de lavado arriba mencionado (excepto en aquellos casos en los que el producto deseado propiamente dicho tenía carácter básico). Después del lavado, los extractos que contenían el producto deseado se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtraron luego. Los productos brutos se aislaron después por eliminación del o los disolventes por evaporación rotativa a presión reducida, a una temperatura apropiada (generalmente inferior a 45ºC).

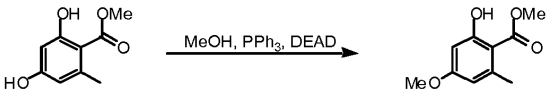
En ocasiones en las que el óxido de trifenilfosfina era un subproducto importante de la reacción, la mixtura de reacción se añadió directamente a un gran volumen de hexano bien agitado. El precipitado resultante de óxido de trifenilfosfina se separó por filtración y el filtrado se procesó de la manera usual.

Procedimientos Generales de Purificación:

A no ser que se menciones específicamente, la purificación cromatográfica se refiere a cromatografía en columna flash sobre sílice, utilizando un solo disolvente o un disolvente mixto como eluyente. Los productos eluidos que contenían el producto deseado purificado adecuadamente se combinaron y concentraron a presión reducida a una temperatura apropiada (generalmente inferior a 45ºC) hasta peso constante. Los compuestos finales se disolvieron en acetonitrilo acuoso al 50%, se filtraron y se transfirieron a viales, después de lo cual se liofilizaron a alto vacío antes de someterlos a ensayos biológicos.

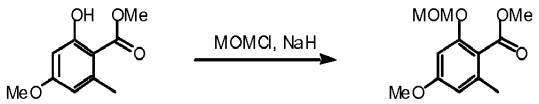
Síntesis para Compuestos Intermedios Utilizados Comúnmente:



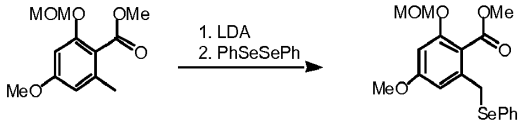


El material de partida (50,0 g, 0,27 moles) se disolvió en 650 mL de THF a 0ºC. Se añadió trifenilfosfina (93,6 g, 0,35 moles), seguida por metanol (12,2 mL, 0,30 moles) y azodicarboxilato de dietilo (56,2 mL, 0,35 moles). Después de agitar a 0ºC durante 1,5 horas, la mixtura de reacción se concentró, se disolvió en éter dietílico, y se lavó con solución 1N de hidróxido de sodio. La capa acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado y se extrajo con dietil-éter. Después de purificación en una columna de gel de sílice, se obtuvieron 42,0 g de 509-HD-207 como un sólido amarillo pálido con rendimiento de 78%

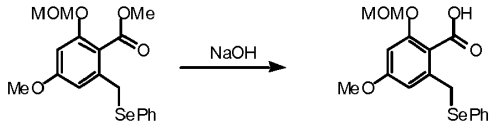
.



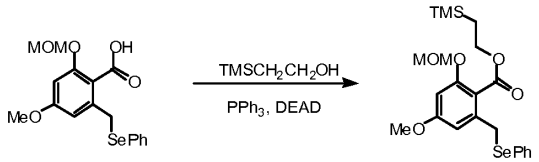
Al matraz de reacción que contenía NaH (95%, 14,5 g, 0,57 moles) en 1 L de THF a 0ºC se añadió 509-HD-207 (75,0 g, 0,38 moles) en 0,5 L de THF. Después de agitar durante 0,5 h, se añadió éter clorometil-metílico (43,6 mL, 0,57 moles). Después de agitar a 0ºC durante 1 h, se dejó calentar el todo hasta la temperatura ambiente. La reacción se enfrió con agua y se extrajo con pentano. Después de purificación en una columna de gel de sílice, se obtuvieron 83 g de 509-HD-209 como aceite incoloro con rendimiento de 92%.



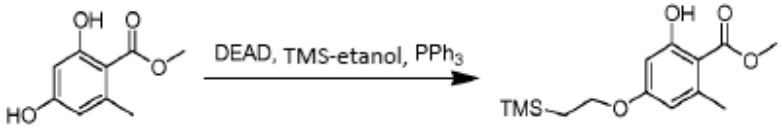
Se disolvió diisopropil-amina (68,1 mL, 486 moles) en 1 L de THF a 0ºC. Se añadió n-BuLi (2,5 M, 207 mL). La solución se agitó durante 20 min, y se enfrió luego a -78ºC. Se añadió lentamente la solución de 509-HD-209 (77,8 g, 324 moles) en 250 mL de THF. 1 hora más tarde se añadió la solución de diseleniuro de difenilo (85,9 g, 275 moles) en 250 mL de THF. Después de agitar a -78ºC durante 1 h, la reacción se enfrió con solución saturada de cloruro de amonio, y se extrajo con dietil-éter. Después de purificación en la columna de gel de sílice, se obtuvieron 90,2 g de 509-HD-211 como aceite amarillo pálido con rendimiento de 68%.



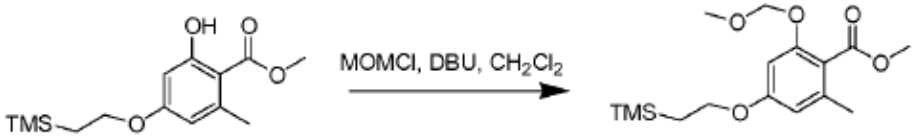
Se disolvió 509-HD-211 (90,2 g, 228 milimoles) en 500 mL de etanol. Se añadió solución de hidróxido de sodio (1 N, 456 mL). La solución resultante se calentó a reflujo durante 12 h. La mixtura de reacción se acidificó con ácido clorhídrico 1N, se extrajo con dietiléter y se concentró, dando 84,6 g de 509-HD-212 como un sólido amarillo pálido con rendimiento de 97%.



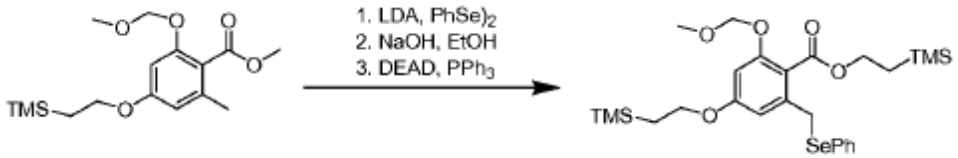
Se disolvieron 509-HD-212 (84,6 g, 222 milimoles) y trifenilfosfina (75,7 g, 289 milimoles) en una mixtura de 500 mL de dietil-éter y 125 mL de tolueno a 0ºC. Se añadieron respectivamente 2-(trimetilsilil)etanol (38,2 mL, 266 mmoles) y azodicarboxilato de dietilo (45,4 mL, 289 milimoles). Después de agitar durante 10 min, se calentó el todo a la temperatura ambiente. Se añadió una gran cantidad de pentano para precipitar el sólido. Después de filtración, el producto bruto se purificó en una columna de gel de sílice y se obtuvieron 80,0 g de 509-HD-213 como aceite amarillo pálido con rendimiento de 75%.



A una solución de material de partida (157 g, 0,86 moles) en 1,6 L de tolueno (ligeramente turbio), se añadieron TMS-etanol (150 g, 1,27 moles, 1,48 eq.), y PPh_3 (440 g, 1,68 moles, 1,95 q.). Después de enfriar a 0ºC, se añadió lentamente DEAD (725 mililitros de solución al 40%, 1,29 moles, 1,5 eq.) mediante un embudo de goteo mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 10ºC en 3 horas. Después de agitar a la temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió el todo en una solución de hexanos (12 L) agitada rápidamente. El sólido se filtró a través de una compresa de celita y la compresa se lavó con 1 L de hexanos. Los filtrados se combinaron y concentraron para dar el producto bruto como aceite pardo. El aceite se purificó en gel de sílice con hexanos/EtOAc (15:1, 10:1, 6:1) para dar 140 g del producto como un sólido blanquecino.



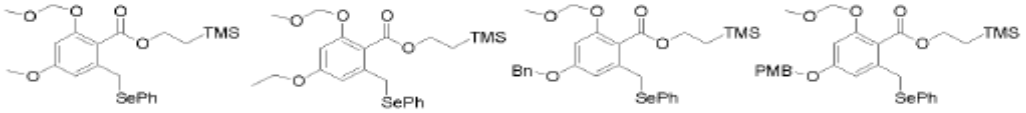
El fenol (140 g, 0,49 moles) se disolvió en 400 mL de CH_2Cl_2, y se añadió DBU (135,5 mL, 0,91 moles, 1,85 eq.). Después de enfriar a 0ºC, se añadió MOMCl (66 mL, 0,87 moles, 1,78 eq.). Después de agitar a la temperatura ambiente durante 24 horas, se enfrió la reacción con NH_4Cl saturado, y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró a sequedad. El producto bruto se purificó en columna con hexanos/EtOAc, 10:1, 6:1 para dar 132 g del producto deseado (rendimiento 82%).



A una solución de diisopropilamina (143,6 mL, 1,02 moles, 2,3 eq.) en 320 mL de THF, se añadió *n*-BuLi (422,6 mL, 2,5 M) a 0ºC mediante un embudo de adición, mientras se controlaba la temperatura interna alrededor de 5ºC. Después de 5 min a dicha temperatura, la reacción se enfrió a -78ºC. Se añadió una solución del material de partida (145 g, 0,44 moles) en 475 mL de THF mediante un embudo de adición mientras se controlaba la temperatura interna a o por debajo de -70ºC. Después de la adición, se agitó a -70ºC durante 30 min. Se añadió luego, a dicha temperatura, una solución de $PhSe_2$ (140 g, 0,45 moles, 1 eq.) en 400 mL de THF mediante un embudo de adición. Después de la adición, se agitó a -78ºC durante 45 min. La reacción se enfrió con NH_4Cl saturado, y se diluyó con EtOAc. Se calentó a la temperatura ambiente. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró a sequedad. El producto bruto se utilizó sin purificación para el paso siguiente.

El producto bruto procedente del último paso se disolvió en 300 mL de EtOH. Se añadieron luego 300 mL de NaOH 1N. La reacción se calentó a 80ºC durante una noche. Después de enfriar, se transfirió a un embudo separador y se lavó con hexanos. La capa acuosa se acidificó a 0ºC con HCl 1 N hasta pH = 3. Se extrajo luego con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron a sequedad. El ácido bruto se utilizó para el paso siguiente sin purificación.

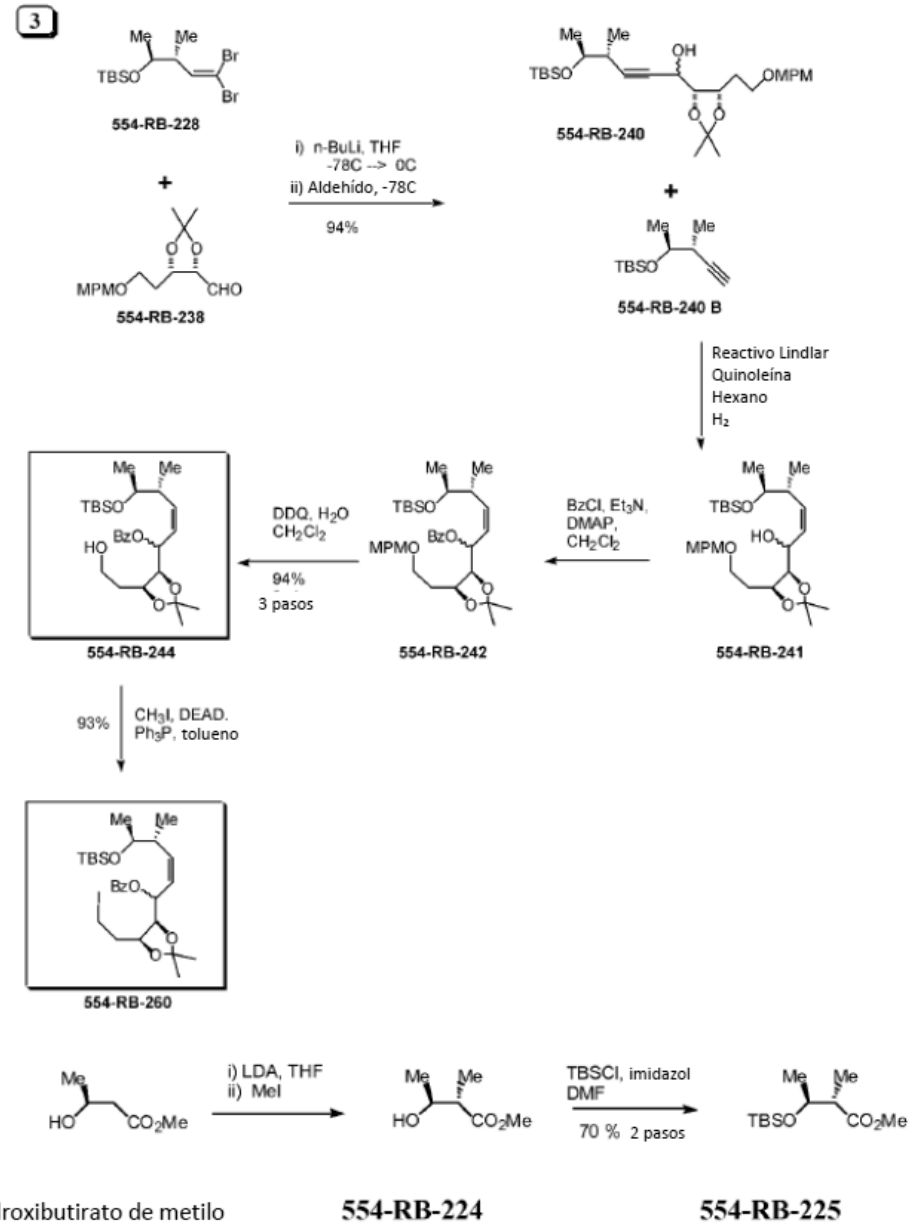
La esterificación se realizó de acuerdo con el primer paso utilizando DEAD (200 g), PPh_3 (330 g) y TMS-etanol (150 g) en 1,4 L de tolueno para dar 145 g de producto después de cromatografía en columna.



Se produjeron otras sustancias aromáticas con sustituciones en C14 tales como metilo, etilo, bencilo, PMB (MPM), etc. de manera análoga por sustitución del primer paso con alcoholes correspondientes tales como metanol, etanol, alcohol bencílico, o alcohol PMB, etc.

Síntesis de alcohol 554-RB-244

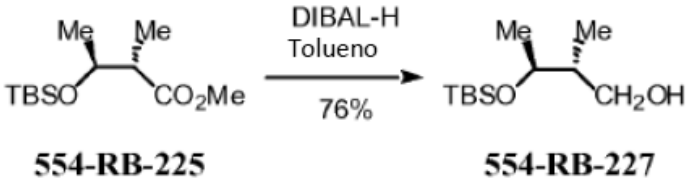
y yoduro 554-RB-260



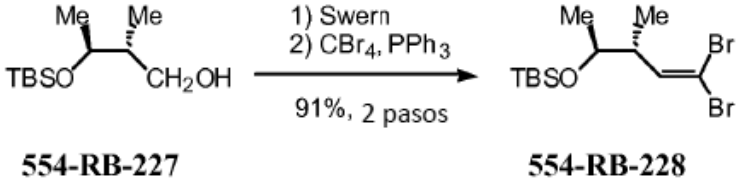
3-Hidroxibutirato de metilo **554-RB-224** **554-RB-225**

A una solución mantenida en agitación de diisopropilamina (2 eq., 366 milimoles, 51,3 mL) en THF seco (200 mL) a -78ºC se añadió lentamente una solución 1,6 M de *n*-BuLi (2 eq., 366 milimoles, 230 mililitros) a lo largo de un periodo de 20 min. La mixtura de reacción se dejó calentar a 0ºC y se mantuvo en agitación durante 45 min, después de lo cual la solución se enfrió de nuevo a -78ºC. Se añadió después una solución de 3-hidroxibutirato de metilo (21,6 g, 183 milimoles) en THF seco (100 mL) lentamente durante un periodo de 20 minutos, después de lo cual se añadió MeI puro (5 eq., 915 milimoles, 57 mL) durante un periodo de 5 min. La mixtura de reacción se dejó en agitación durante 10 min a -78ºC, se calentó luego a la temperatura ambiente, y se agitó durante 2 horas. La reacción se enfrió con una solución saturada de NH_4Cl (350 mL), se extrajo con Et_2O (3 x 400 mL), se lavaron los extractos orgánicos reunidos con una solución saturada de NH_4Cl (350 mL), agua (2 x 450 mL), salmuera (450 mL), se secaron con K_2CO_3, se filtraron y se concentraron. El alcohol bruto 555-RB-224 se disolvió en DMF seca (100 mL), se añadió imidazol (2,5 eq., 363 milimoles, 24,7 g) y la mixtura se enfrió a 0ºC en un baño de hielo/agua. Se añadió luego TBSCl (1,2 eq., 33,0 milimoles, 5 g), se dejó calentar lentamente la mixtura a la temperatura ambiente

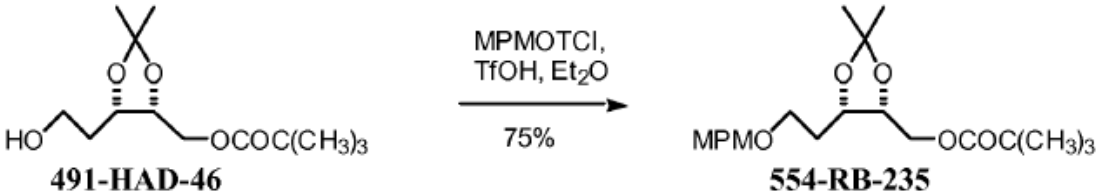
y se agitó durante 16 horas, después de lo cual se añadió una solución saturada de $NaHCO_3$ (250 mL). La mixtura se extrajo con Et_2O (3 x 250 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una solución saturada de $NaHCO_3$ (350 mL), agua (3 x 350 mL), salmuera (350 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice utilizando 5% EtOAc/hexano para dar 31,7 g (129 milimoles, 70% en dos pasos) del compuesto protegido 554-RB-225.



En un matraz de 5 L con 3 bocas, equipado con agitación mecánica se introdujo 554-RB-225 (221 mmol, 54,5 g) disuelto en tolueno (750 mL). La mixtura se enfrió a -78 ºC y se añadió lentamente DIBAL-H (1 M en tolueno, 2,5 eq., 553 mmol, 553 mL). La mixtura se dejó en agitación a -78°C durante 15 minutos, después de lo cual se calentó y se agitó durante 2 horas. La reacción se enfrió con MeOH (10 eq., 2,2 moles, 89 mL) a -78° de y se dejó calentar a temperatura ambiente, se añadieron Et_2O (2,5 L), y una solución saturada de Na_2SO_4 (1 l) y la solución se agitó durante una noche. La mixtura se filtró a través de celita y el sólido se lavó con Et_2O (2 × 1 l). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice utilizando 10-15% EtOAc/hexano para dar 40,6 g (186 mmol, 76%) de alcohol 554-RB-227.

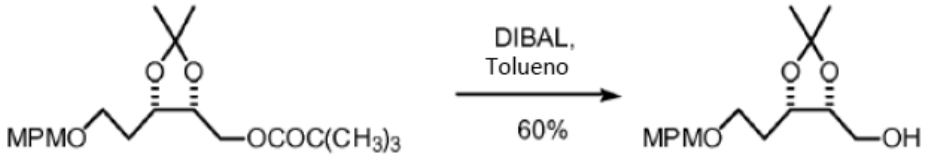


A una solución de cloruro de oxalilo (2 eq., 372 milimoles, 33,0 mL) en CH_2Cl_2 (800 mL), se añadió MSO (4 eq., 744 milimoles, 53,0 mL) a -78ºC. Después de 30 min a -78ºC, se añadió una solución de alcohol 554-RB-227 (186 mmol, 40,6 g) en CH_2Cl_2 (200 mL) durante un periodo de 15 minutos. Después de 50 minutos a -78 ºC, se añadió Et_3N (4 eq., 744 milimoles, 104 mL) y la reacción se calentó a 0ºC y se agitó durante 45 min. Se enfrió luego con una solución saturada de NH_4Cl (500 mL), se extrajo con Et_2O (1 x 2 L, 2 x 400 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El aldehído bruto se filtró a través de una columna corta de gel de sílice con 10% EtOAc/hexano. A una solución de PPh_3 (3 eq., 558 milimoles, 146 g) en CH_2Cl_2 (2 L), se añadió CBr_4 (1,5 eq., 279 milimoles, 92,5 g) a 0ºC. Se añadió luego una solución de aldehído y Et_3N (1 eq., 186 milimoles, 26 mL) en CH_2Cl_2 (200 mL). La solución se agitó bajo nitrógeno a la temperatura ambiente durante 1 hora, después de lo cual la mixtura se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2, se vertió en hexano (2,5 L) y se agitó. El precipitado se filtró a través de celita y se concentró el filtrado. La purificación por cromatografía en gel de sílice utilizando CH_2Cl_2 como eluyente dio 62,9 g (169 milimoles, 91% en dos pasos) de 554-RB-228,



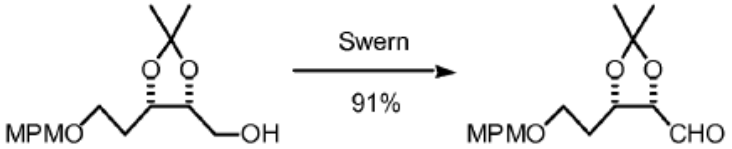
Un matraz de 5 L con 3 bocas se equipó con agitación mecánica, baño de refrigeración y purga con nitrógeno puro.

Se añadió luego al matraz una solución de alcohol 491-HAD-46 (202 milimoles, 52,5 g) y MPMOTCl (2 eq., 404 milimoles, 115,5 g) en Et_2O (1 L), y se enfrió a 0ºC. Se añadió lentamente una solución de TfOH (1,5 mL) en Et_2O (120 mL) con una bomba de jeringuilla durante un periodo de 50 min. Se añadió después una solución saturada de $NaHCO_3$ (500 mL), se extrajo la mixtura con Et_2O (2 x 700 mL); se lavaron los extractos orgánicos reunidos con salmuera (2 x 1 L), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2, se vertió en hexano (2,5 L), se filtró el precipitado a través de celita y se concentró el filtrado a presión reducida. El material bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando 5-10% EtOAc/hexano como eluyente para dar 57,3 g (151 milimoles, 75%) del alcohol protegido 554-RB-235.



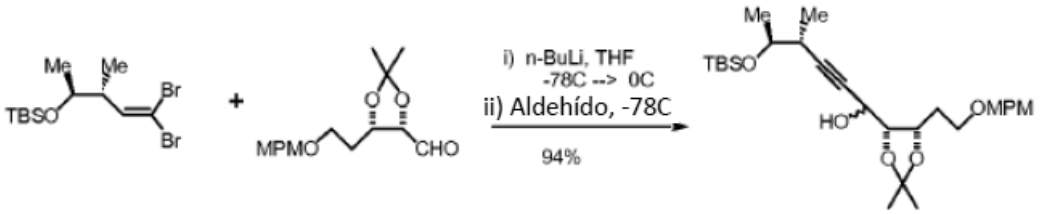
554-RB-235 **554-RB-237**

En un matraz de 3 L con 3 bocas, equipado con agitación mecánica, se puso 554-RB-235 (151 mL, 57,3 g) disuelto en tolueno (750 mL). La mixtura se enfrió a -78ºC y se añadió lentamente DIBAL-H (1 M en tolueno, 2,65 eq., 400 milimoles, 400 mL). La mixtura se dejó en agitación a -78ºC durante 10 min, después de lo cual se calentó a 0ºC y se agitó durante 20 min. La reacción se enfrió con MeOH (10 eq., 1,5 moles, 61 mL) a -78ºC y se dejó calentar a la temperatura ambiente. Se añadieron Et_2O (2,5 L) y una solución saturada de Na_2SO_4 (1 L), y la solución se agitó durante una noche. La mixtura se filtró a través de celita y el sólido se lavó con Et_2O (2 x 1 L). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice utilizando 20-40% EtOAc/hexano para dar 27 g (91 milimoles, 60%) de alcohol 554-RB-237.



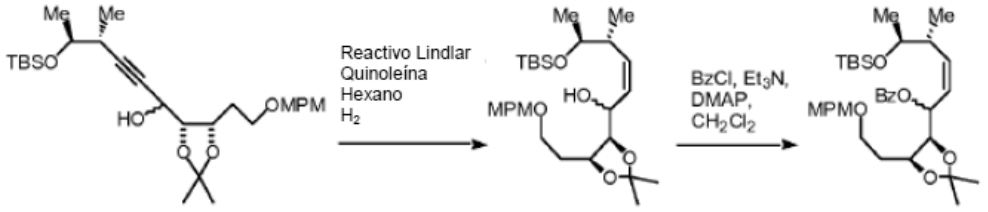
554-RB-237 **554-RB-238**

A una solución de cloruro de oxalilo (2 eq., 202 milimoles, 18 mL) en CH_2Cl_2 (650 mL), se añadió DMSO (4 eq., 404 milimoles, 29 mL) a -78ºC. Después 30 min a -78ºC, se añadió una solución de alcohol 554-RB-237 (101 milimoles, 30 g) en CH_2Cl_2 (100 mL) durante un periodo de 30 min. Después de 45 min a -78ºC, se añadió Et_3N (4 eq., 404 milimoles, 56 mL) y la reacción se dejó calentar a 0ºC y se agitó durante 45 min. Se enfrió luego con una solución saturada de NH_4Cl (250 mL), y se extrajo con EtOAc (1 x 2 L, 2 x 250 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El aldehído bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice con 10% EtOAc/hexano para dar 27 g (91,7 milimoles, 91%) de aldehído 554-RB-238.



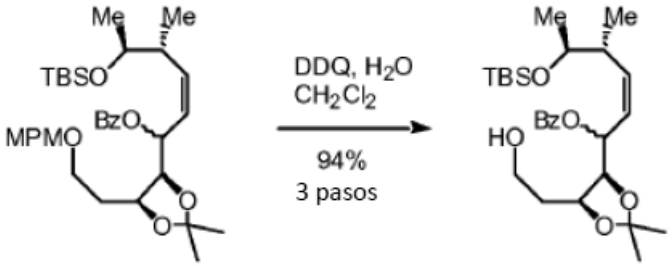
554-RB-228 **554-RB-238** **554-RB-240**

Se disolvió la dibromoolefina 554-RB-228 (1,5 eq., 138 milimoles, 51,2 g) en THF (1 L) y se enfrió a -78ºC bajo nitrógeno. A continuación, se añadió *n*-BuLi (1,6 M/hexano, 3,3 eq., 302 milimoles, 189 mL) y la reacción se agitó a -78ºC durante 40 min, a 0ºC durante 30 min, y se enfrió luego nuevamente a -78ºC. Se añadió aldehído 554-RB-238 (91,7 milimoles, 27,0 g) disuelto en THF (200 mL) a la solución y se agitó durante 30 min a -78ºC. La solución se dejó calentar a la temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 horas. La mixtura se enfrió con agua (700 mL), se extrajo con EtOAc (3 x 750 mL) y los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera (1 L), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando 10-30% EtOAc/hexano para dar 43,7 g (86 milimoles, 94%) de 554-RB-240,



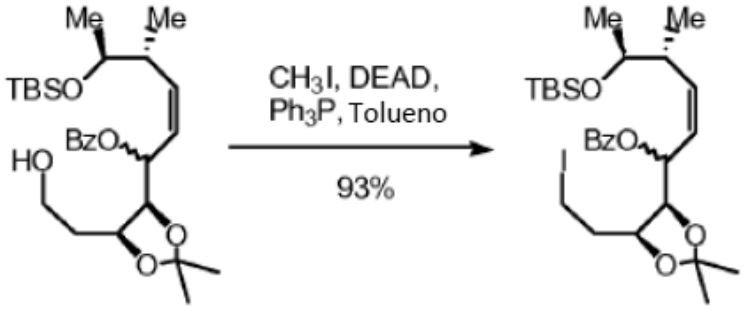
554-RB-240 **554-RB-241** **554-RB-242**

Se disolvió 554-RB-240 (86 milimoles, 43,7 g) en hexano (1 L). A continuación, se añadieron quinoleína (1 mL) y catalizador Lindlar (10 g). Se montó un balón de H_2 y la mixtura se purgó 5 veces con H_2. La reacción se agitó bajo hidrógeno. Después de 13 horas, 17 horas, 22 horas, y 38 horas, se filtró el catalizador y se añadieron catalizador nuevo (10 g) y quinoleína (1 mL) cada vez. Después de 42 horas, se paró la reacción, se filtró el catalizador a través de celita y la mixtura se concentró a presión reducida. A continuación, se disolvió 554-RB-241 bruto en CH_2Cl_2 (700 mL), se añadieron Et_3N (3,75 eq., 323 milimoles, 45 mL), BzCl (3 eq., 258 milimoles, 30 mL) y DMAP (0,075 eq., 6,45 milimoles, 788 mg) y la mixtura se agitó durante 96 horas a la temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mixtura se diluyó con EtOAc (2 L) y una solución 0,1 N de NaOH (800 mL). La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una solución 0,2 N de NaOH (5 x 500 mL), salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El compuesto bruto se filtró a través de una columna de gel de sílice con 5% EtOAc/hexano para dar un rendimiento cuantitativo de compuesto 554-RB-242 protegido.



554-RB-242 **554-RB-244**

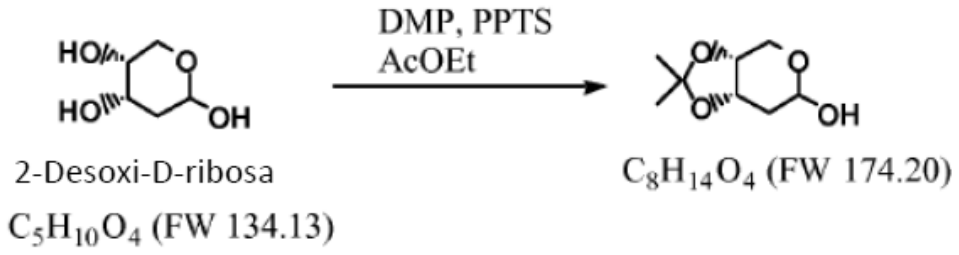
Se disolvió 554-RB-242 en CH_2Cl_2 (500 mL), se añadieron H_2O (250 mL) y DDQ (1,1 eq., 94,6 milimoles, 21,3 g) y la mixtura se agitó enérgicamente a la temperatura ambiente durante 4 horas. La mixtura se enfrió con una solución 0,2 N de NaOH (500 mL) y se diluyó con EtOAc (2 L). La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (2 x 500 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con una solución 0,2 N de NaOH (3 x 700 mL), salmuera (700 mL), se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando 10% EtOAc/hexano para dar 39,9 g (81 milimoles, 94% de acetileno en tres pasos) de alcohol libre 554-RB-244.



554-RB-244 **554-RB-260**

A una solución de 554-RB-244 (6,09 milimoles, 3,0 g) en tolueno (100 mL), se añadió Ph_3P (1,7 eq., 10,4 milimoles, 2,71 g) a la temperatura ambiente. Se añadieron a continuación CH_3I (1,4 eq., 7,92 milimoles, 0,49 mL) y DEAD (1,1 eq., 6,70 milimoles, 1,45 mL) al mismo tiempo. La mixtura se agitó durante 1,5 horas a la temperatura ambiente, después de lo cual se vertió la misma en hexano y se agitó durante 10 min. El precipitado se filtró y se concentró el filtrado. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando 5% de EtOAc/hexano para dar 3,40 g (5,64 milimoles, 93%) de yoduro 554-RB-260,

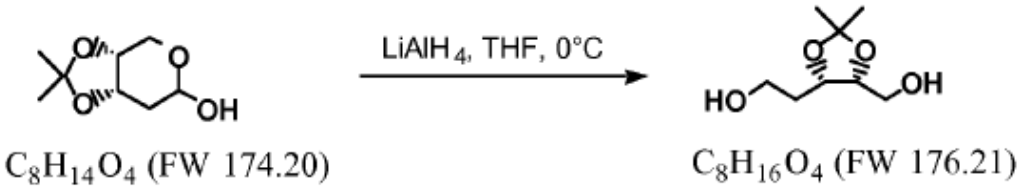
Preparación del compuesto intermedio para la serie de modificación C3-C4:



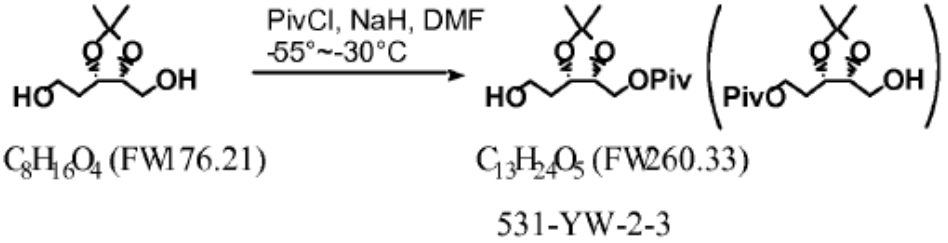
A la suspensión agitada de 2-desoxi-D-ribosa (100,8 g, 0,75 moles, disponible comercialmente de TCI) en EtOAc (800 mL), se añadieron 2-metoxipropeno (94 mL, 0,98 moles, 1,3 eq., Aldrich) y PPTS (4,16 g, 17 milimoles, 2% molar, Aldrich) a la temperatura ambiente bajo N_2.

La mixtura se agitó enérgicamente durante 3 horas.

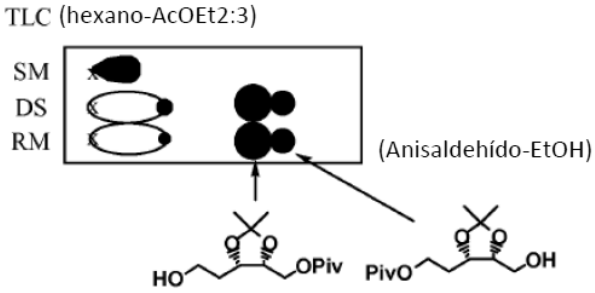
Se filtró luego el residuo insoluble (SM remanente) y se añadió TEA (4,6 mL, 2 eq. a PPTS) al filtrado. El filtrado resultante se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna flash con gel de sílice (gel de sílice 4 kg, hexano-EtOAc 9:1 a 1:1 como eluyente) para dar 68 g del compuesto deseado como aceite incoloro (52%).



A la suspensión agitada de $LiAlH_4$ (9,26 g, 0,244 mol, 1,25 eq., Wako) en THF (200 mL) enfriada en baño hielo/salmuera, se añadió gota a gota SM (68 g, 0,39 moles) en THF (600 mL + 100 mL de lavado) bajo N_2 (en aprox. 1,5 horas). A continuación, se agitó la mixtura durante 15 min más. Después de enfriamiento por adición cuidadosa de MeOH, se añadieron sucesivamente 9,26 mL de agua, 9,26 mL de NaOH acuoso al 10%, 27,78 mL de agua, y la mixtura se agitó enérgicamente durante 1 hora. Posteriormente, se separó por filtración el material insoluble utilizando celita y se lavó con EtOAc (500 mL x 4), y el filtrado resultante se concentró a presión reducida, y se secó a vacío para dar 62,23 g del producto bruto como un aceite amarillo claro (90,5%).

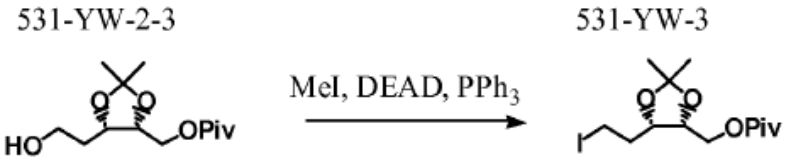


A la suspensión agitada de NaH (8,09 g, dispersión al 60% en aceite, 202 milimoles, 2,2 eq., Wako) en DMF (200 mL) enfriada en un baño hielo/salmuera, se añadió gota a gota (16,2 g, 91,9 milimoles) en DMF (500 mL + 100 mL de lavado) bajo N_2. La mixtura resultante se agitó durante 75 min a la temperatura ambiente. Después de ello la mixtura se enfrió a -55ºC (temperatura interna)**, y se añadió gota a gota PivCl (12,5 mL, 102 milimoles, 1,1 eq., TCI) (en aprox. 10 min). Después de adición, la mixtura se dejó calentar a -30ºC.



Se realizó el enfriamiento por adición cuidadosa de NH_4Cl acuoso saturado, después de lo cual se extrajo la mixtura con EtOAc (1 L). Después de re-extracción de la capa acuosa con EtOAc (500 mL), la fase orgánica reunida se lavó con agua (0,6 L x 3), salmuera (0,3 L) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. Después de filtración del agente de secado, se concentró el filtrado y el aceite pardo residual (25,43 g) se purificó por cromatografía en columna flash de gel de sílice (gel de sílice 2,8 kg, hexano-EtOAc 2:1 a 1:1 como eluyente) para dar 3,73 g de mono-alcohol protegido menos polar no deseado, 531-YW-2-2 (16%) y 13,14 g de producto polar deseado, 531-YW-2-3 (55%), respectivamente como aceite incoloro.

Formación de yoduro:

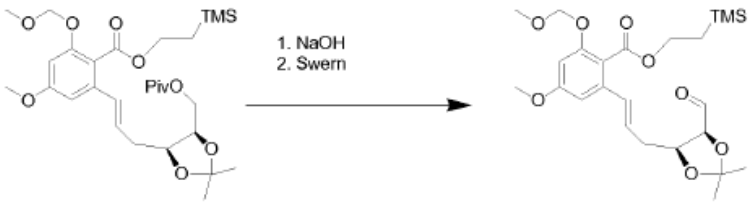


A una solución de 531-YW-2-3 (9,5 g, 36,5 milimoles) en 400 mL de tolueno, se añadió PPh_3 (18,3 g, 62,1 milimol, 1,9 eq.). Después de ello, se añadieron simultáneamente MeI (2,94 mL, 47 milimoles, 1,3 eq.) y DEAD (6,29 mL) mediante 2 bombas de jeringuilla en 20 min. Después de agitar a la temperatura ambiente durante 20 min, se vertió el todo en una solución de pentano agitada rápidamente. Se disolvió el sólido por una pequeña cantidad de CH_2Cl_2 y se añadió al pentano. El precipitado se filtró a través de celita, y se lavó la compresa con pentano. Los filtrados reunidos se concentraron. El aceite bruto se purificó rápidamente en una columna corta de gel de sílice con 20:1, 10:1, 6:1 hex/EtOAc. Se obtuvieron 11,6 del yoduro 531-YW-3.

Acoplamiento:

A una solución de yoduro (531-YW-3, 11,6 g, 31,3 milimoles) y seleniuro (509-HD-213, 24,5 g, 50,9 milimoles, 1,6 eq.) en un disolvente mixto de THF y HMPA (130 mL, ratio 10:1), se añadió una solución de LiHMDS (94 mL, 0,5 M) por medio de una bomba de jeringuilla en una hora y media a -78ºC. Después de 20 min a -78ºC, se dejó calentar el todo a 0ºC. Después de nuevo enfriamiento a -10ºC, se enfrió con NH_4Cl acuoso saturado y se extrajo con EtOAc (2 x). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice con hexanos/EtOAc, 20:1, 10:1, 6:1, 4:1, y 2:1 para dar 16,0 g.

El producto procedente de la operación anterior (16 g) se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL), y se añadió MCPBA (16 g, 50,9 milimoles, 1,6 eq., 55%) a 0ºC. Después de 15 min a 0ºC, se añadió trietilamina (20 mL, exceso). Después de 30 min, se enfrió el todo con $Na_2S_2O_3$ acuoso saturado. Después de agitar durante 20 min, se extrajo con EtOAc (2 x). Las capas orgánicas se lavaron con $Na_2S_2O_3$ saturado, $NaHCO_3$ saturado, salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice con hexanos/EtOAc, 20:1, 10:1, 3:1 y dio 12,5 g del producto deseado, 531-YW-4 (83% en tres pasos).

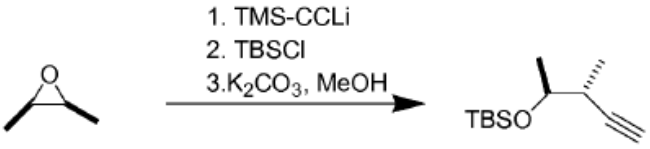


A una solución de éster (5,66 g, 10 milimoles) en EtOH (100 mL), se añadieron 50 mL de NaOH 1N. La reacción se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó luego con agua, y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. Se purificó el todo en una columna de gel de sílice para dar 4,42 g del producto deseado como un aceite (92%).

A una solución de $(COCl)_2$ (2,2 mL, 3 eq.) en 50 mL de CH_2Cl_2, se añadió lentamente DMSO a -78ºC. Después de 15 min a -78ºC, se añadió una solución de alcohol (4,1 g, 3,5 milimoles) a la reacción a -78ºC. Después de 30 min a dicha temperatura, se añadió TEA (10,7 mL, 9 eq.). La reacción se dejó calentar a la temperatura ambiente. Se enfrió luego con NH_4Cl saturado, y se extrajo con EtOAc (2 x). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron a sequedad. Se utilizó el todo en la región siguiente sin purificación.

El aldehído se utilizó como compuesto intermedio general para la síntesis de la modificación C3-C4 por acoplamiento con acetileno apropiado o equivalente.

Preparación de acetilenos para modificaciones C3-C4:

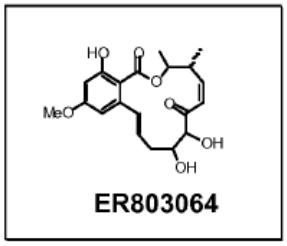


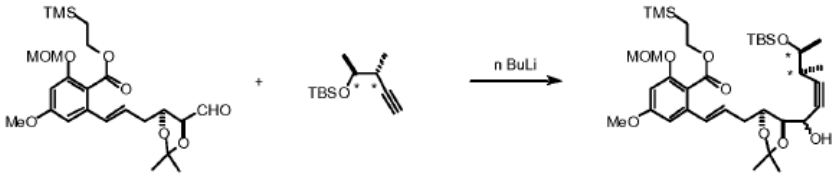
A una solución de TMS-acetileno (38,8 mL) en 1 mL de THF a -60ºC, se añadió *n*-BuLi (110 mL, 2,5 M). La reacción se calentó brevemente a 0ºC, y se enfrió luego nuevamente a -60ºC. Se añadió luego lentamente $BF_3 \cdot Et_2O$ (33,8 mL) seguido por el epóxido (15 mL) por medio de una bomba de jeringuilla. Después de agitar a -60ºC durante 1,5 horas, se calentó a la temperatura ambiente, se enfrió con NH_4Cl saturado, y se extrajo con EtOAc (2 x). Las capas orgánicas se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó por medio de una columna de gel de sílice con 4:1 hexanos/EtOAc para dar 13,9 g del producto deseado como un aceite.

El alcohol se sometió a sililación en condiciones estándar con TBSCl e imidazol en cloruro de metileno.

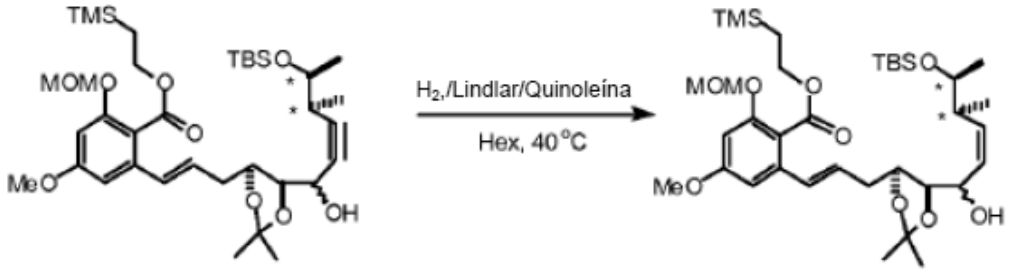
Una mixtura de TMS-acetileno protegido con TBS (8,7 g) y K_2CO_3 (8 g) en metanol (120 mL) se agitó durante 5 horas a la temperatura ambiente. Se extrajo con EtOAc (2 x). Las capas orgánicas se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice con hexanos para dar 6,17 g de aceite incoloro (95%).

Preparación de ER803064:





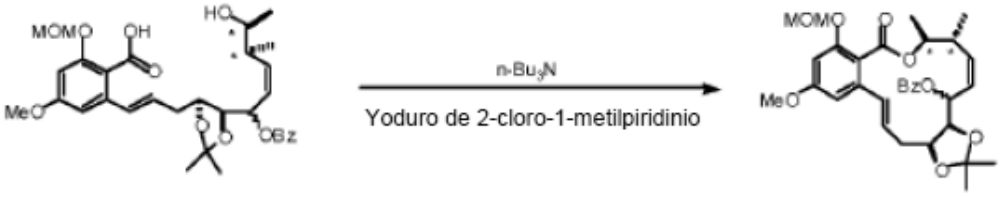
Se disolvió acetileno (2,65 g, 12,5 milimoles) en 30 mL de THF y se enfrió de nuevo a -78ºC. Se añadió *n*-BuLi (2,5 N, 6,24 mL) en hexano. La mixtura de reacción se agitó a -78ºC durante 10 min, y se añadió luego una solución de aldehído (3,0 g, 6,24 milimoles) en 30 mL de THF por medio de una cánula. La mixtura de reacción se agitó a -78ºC durante 30 min y se calentó gradualmente a la temperatura ambiente. La mixtura se enfrió con agua y se extrajo con EtOAc. Después de purificación en una columna de gel de sílice, se obtuvieron 3,7 g de 509-HD-108 como un aceite amarillo pálido con rendimiento de 78%.



Se disolvió 509-HD-108 (3,4 g, 4,91 milimoles) en 200 mL de hexano. Se añadieron quinoleína (200 µl) y catalizador Lindlar (500 mg). La mixtura de reacción se agitó a 40ºC bajo la atmósfera de un balón de H_2 durante un total de 18 horas. Después de ello, el catalizador se eliminó por filtración. La cantidad cuantitativa de 509-HD-112 se obtuvo como un aceite amarillo pálido.

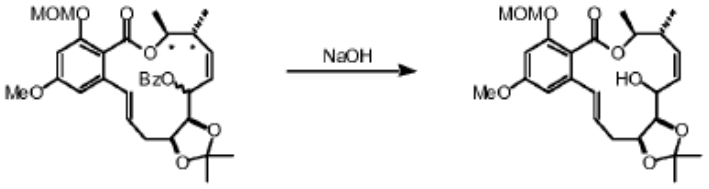
Se disolvió 509-HD-112 (3,4 g, 4,9 milimoles) en 60 mL de diclorometano a la temperatura ambiente. Se añadieron, respectivamente, trietilamina (1,71 mL, 9,8 milimoles), cloruro de benzoílo (1,14 mL, 12,2 milimoles) y una cantidad catalítica de DAMP. Después de agitar durante 12 horas, se añadió solución 0,1 N de hidróxido de sodio y la mixtura de reacción se extrajo con EtOAc. El producto bruto se purificó en una columna de gel de sílice, dando 509-HD-115 como un aceite incoloro con rendimiento de 94%.

Se disolvió 509-HD-115 (3,7 g, 4,64 milimoles) en 50 mL de THF. Se añadió la solución de TBAF en THF (1 N, 25 mL). La mixtura de reacción se calentó a 50ºC durante 24 horas. Se diluyó la misma con Et_2O y se lavó con H_2O. Después de purificación en una columna de gel de sílice, se obtuvo 509-HD-116 como una espuma de color amarillo pálido con rendimiento de 68%.

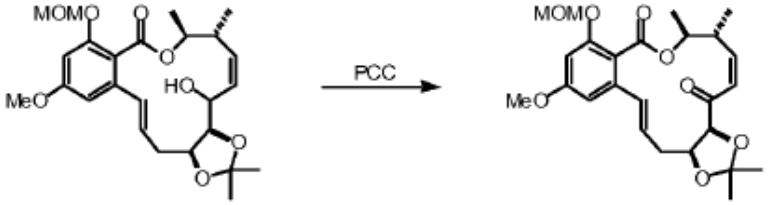


Se disolvieron yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (2,4 g, 9,5 milimoles) y *n*-Bu_3N (2,3 mL, 9,5 milimoles) en 180 mL de diclorometano y se calentó a reflujo. La solución de 509-HD-116 (1,85 g, 3,2 milimoles) en 50 mL de THF se añadió

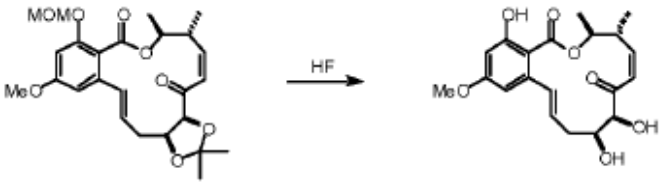
lentamente. La mixtura de reacción se calentó durante 30 min. Se lavó luego con ácido clorhídrico 0,02 N, solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera, respectivamente. Después de purificación en una columna de gel de sílice, se obtuvo 509-HD-118 como una espuma de color amarillo pálido con rendimiento de 62%.



Se disolvió 509-HD-118 (1,22 g, 2,2 moles) en 30 mL de etanol. Se añadió solución de hidróxido de sodio (1 N, 21,5 mL). La mixtura de reacción se agitó durante 48 horas a la temperatura ambiente. Se diluyó luego con H_2O, y se extrajo con EtOAc. Después de purificación en la columna de gel de sílice, se obtuvieron 346 mg del isómero simple principal deseado 509-HD-119B como un aceite incoloro.



Se disolvió 509-HD-119B (155 mg, 0,34 milimoles) en 9 mL de diclorometano. Se añadieron tamiz molecular (4A, 360 mg) y PCC (360 mg, 1,7 milimoles). La mixtura de reacción se agitó durante 1 hora a la temperatura ambiente. Después de hacerla pasar a través de celita, se obtuvo 509-HD-125 como un aceite incoloro con rendimiento cuantitativo.



Se disolvió 509-HD-125 en 2,5 mL de diclorometano. Se añadió luego ácido fluorhídrico (6 N, 10 mL). La mixtura de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 30 min. Se diluyó luego la misma con más diclorometano, se lavó con agua y solución saturada de bicarbonato de sodio. Después de purificación con una compresa de gel de sílice, se obtuvo ER803064 como un sólido blanco con rendimiento de 86%.

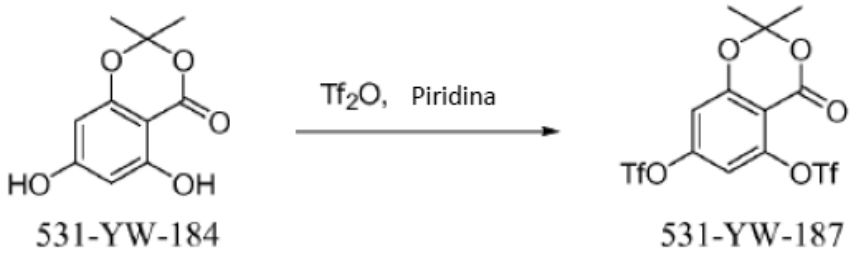
Síntesis de ER806201:

1) Síntesis de triflato:

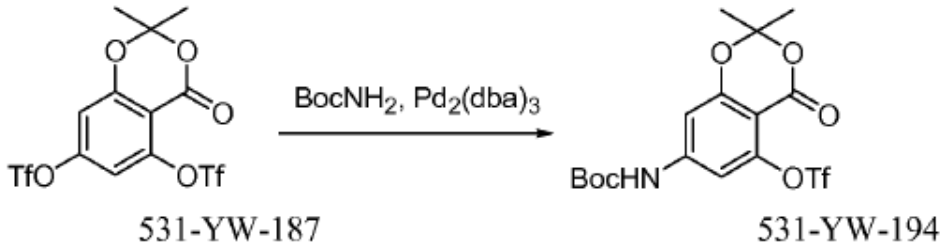
531-YW-184

A una solución de ácido trihidroxi-benzoico (120 g), en 350 mL de acetona se añadieron 500 mL de TFA (ácido trifluoroacético) a 40ºC, bajo agitación. Después de 1 hora a dicha temperatura, se añadieron 300 mL de TFAA (anhídrido trifluoroacético). La mixtura se calentó durante 3 días. La mixtura se destiló al vacío del laboratorio a 50ºC

para eliminar los disolventes. El producto bruto se diluyó luego con 4 L de CH_2Cl_2, se lavó con agua, solución saturada de $NaHCO_3$, se secó y se concentró para dar 85 g de un sólido semipuro. El sólido se cristalizó en EtOH (1 g/ 2 mL) para dar 20 g de cristal puro. Las aguas madres se purificaron luego por gel de sílice utilizando CH_2Cl_2 hasta 5% MeOH/CH_2Cl_2 para dar 55% de producto adicional, 531-YW-184.

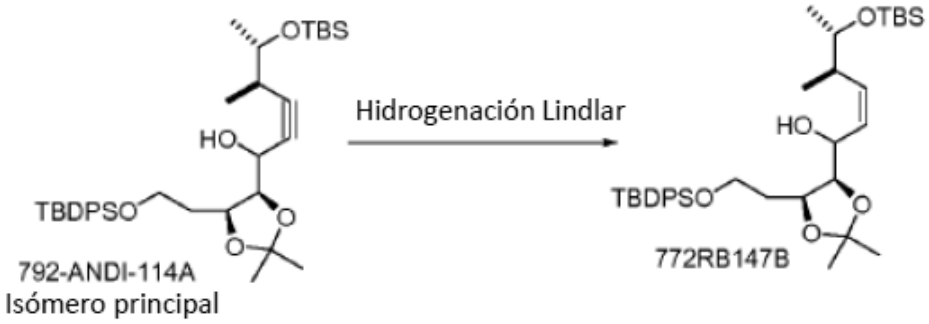


A una solución de 531-YW-184 (50 g, 238 milimoles) en 156 mL de piridina, se añadió Tf_2O (100 mL, 595 milimoles, 2,5 eq.) a 0ºC en 3 horas. Se calentó luego a la temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mixtura de reacción se diluyó con agua. La mixtura se filtró. El sólido en el filtro se lavó con agua, y se secó a vacío para dar un sólido, 531-YW-187 (100 g).



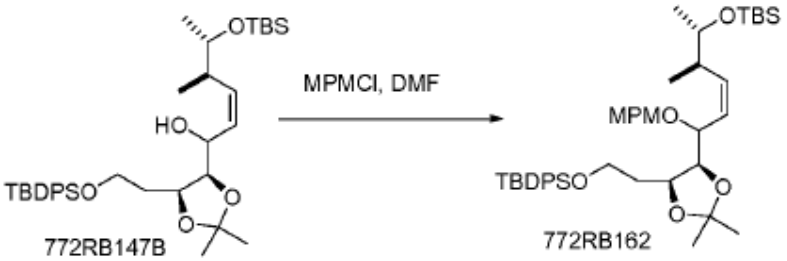
A una mixtura de ditriflato, 531-YW-187 (45,35 g), $BocNH_2$ (17,22 g), $Pd_2/dba)_3$ (4,38 g) y Pt-Bu_3 (4,38 g) en 150 mL de tolueno, se añadió trietilamina (26,92 mL). La reacción se calentó en atmósfera inerte a 80ºC durante 4 horas. La mixtura de reacción bruta se enfrió y se filtró a través de una compresa de celita. Los filtrados se concentraron y se purificaron en gel de sílice con Hex/EtOAc, 9:1, 4:1 para dar 28,3 g del producto deseado, 531-YW-194.

2) Síntesis de Olefina:

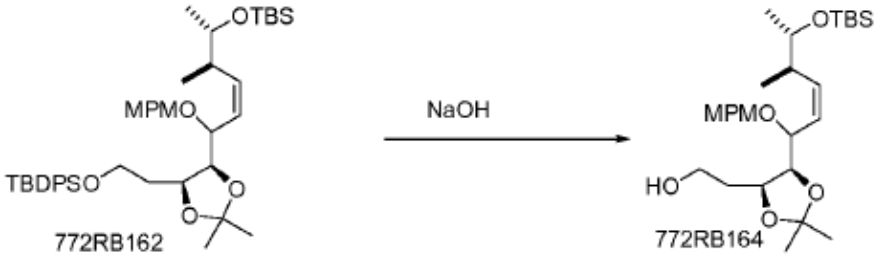


Se preparó 792-ANDI-114A análogamente a la preparación de 554-RB-240 con grupos protectores apropiados, es decir, se reemplazó el éter MPM estaba con éter TBDPS.

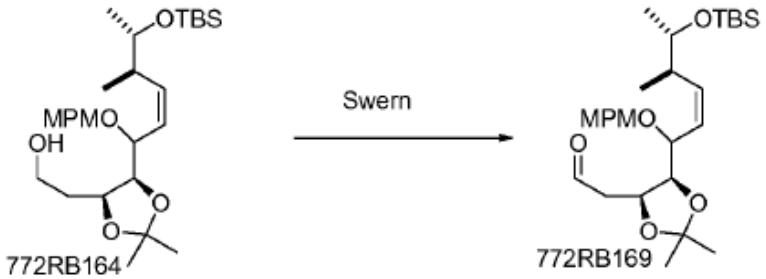
A una solución de 792-ANDI-114A (165,9 g, 265 milimoles) en 2,65 L de hexanos, se añadieron quinoleína (2,65 mL) y catalizador Lindlar (28,2 g, 13,3 milimoles, 0,05 eq.). La mixtura se desgasificó repetidamente a vacío y se recargó con nitrógeno (3 x) e hidrógeno (3 x), después de lo cual se ajustó la entrada de hidrógeno en el hidrogenador a 0,114 moles. La reacción se monitorizó por MS/1H-MMR. Después de una noche, la suspensión se filtró y se recargó con catalizador e hidrógeno. Después de 3 días, la reacción se filtró a través de celita. Los filtrados se concentraron y se purificaron sobre gel de sílice para dar 104 g, 772RB 147B como un aceite.



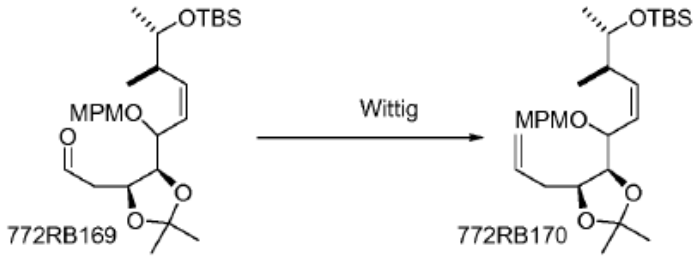
A una solución de 772RB147B (67,4 g, 107 milimoles), se añadieron lentamente MPMCl (21,9 mL, 161 milimoles, 1,5 eq.) y una solución 1M de NaHMDS en THF (140 mL, 140 milimoles, 1,3 eq.) con una bomba de jeringuilla en 2 horas a 0ºC. Después de agitar durante 1,5 horas a 0ºC, se enfrió la reacción con NH_4Cl saturado a 0ºC y se calentó a la temperatura ambiente. La mixtura se extrajo con EtOAc (3 x). Los extractos se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice para dar 772RB162 con rendimiento cuantitativo.



Se disolvió 772RB162 (119,6 g, 160 milimoles) en una mixtura de NaOH al 10% en metanol (3,2 L, v/v) y 3,5 mL de agua. La reacción se calentó a 45ºC durante 48 horas. Después de enfriar, se diluyó con 9 L de CH_2Cl_2, se lavó con agua (2 x), NH_4Cl saturado, salmuera, se secó y se concentró. El producto bruto se purificó en gel de sílice con 10%-25-35% de EtOAc/hexanos para dar el 772RB164 (78 g, rendimiento 96%).

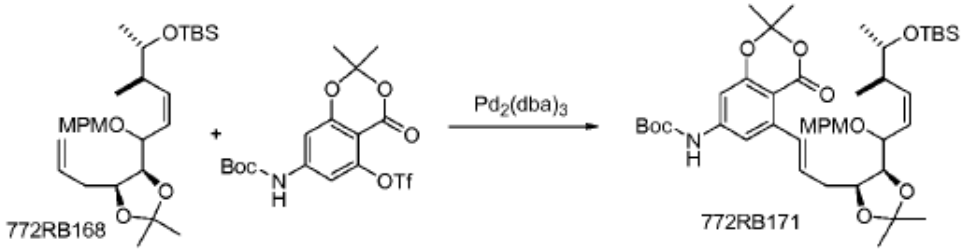


A una solución de $(COCl)_2$ (25 mL, 295 milimoles, 2 eq.) en CH_2Cl_2 (870 mL), se añadió lentamente DMSO (41,85 mL, 590 milimoles, 4 eq.) a -78ºC. Después de 30 min de agitación a dicha temperatura, se añadió una solución de 772RB164 (75 g, 147,4 milimoles) en CH_2Cl_2 (160 mL) en 45 min. Después de agitar a -78ºC durante 45 min, se añadió a dicha temperatura Et_3N (82,2 mL, 590 milimoles, 4 eq.). Después de agitar durante 30 min, se calentó a 0ºC durante 1,5 h. La reacción se enfrió con 750 mL de NH_4Cl saturado y se extrajo con EtOAc (3 x). Los extractos se secaron y se concentraron. El producto bruto se resuspendió con 2,5 L de solución 1:1 de EtOAc/hexanos, se lavó con agua (3 x), salmuera, se secó y se concentró. El producto bruto 772RB169 se utilizó directamente para el paso siguiente.



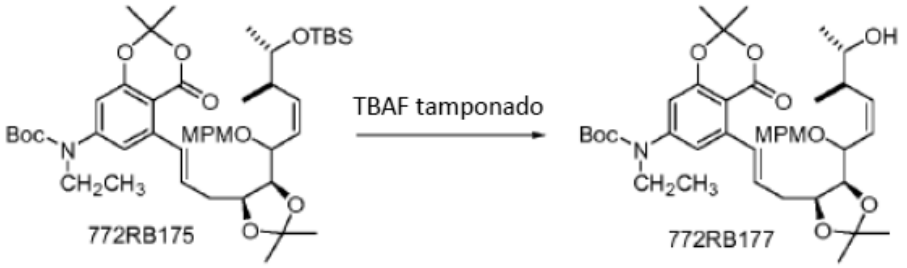
A una suspensión de Ph_3PCH_3Br (115,8 mL, 324,3 milimoles, 2,2 eq.) en una mixtura de THF (870 mL) y DMSO (433,6 mL), se añadió *n*-BuLi (184,3 mL de suspensión 1,6 M, 294,8 milimoles, 2 eq.) a 0ºC. Después de agitar durante 1 hora, se añadió una solución de 772RB169 (74,7 g, en 175 mL de THF, 147,4 milimoles) a 0ºC. Después de 30 min, se calentó a la temperatura ambiente. Después de 2 h, se enfrió con 1,1 L de $NHCl_4$ saturado y se extrajo con EtOAc (3 x). Los extractos se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice con 5-10% EtOAc/hexanos para dar 66,5 g de 772RB170 como un aceite (rendimiento 89%).

3) Acoplamiento de triflato y olefina:

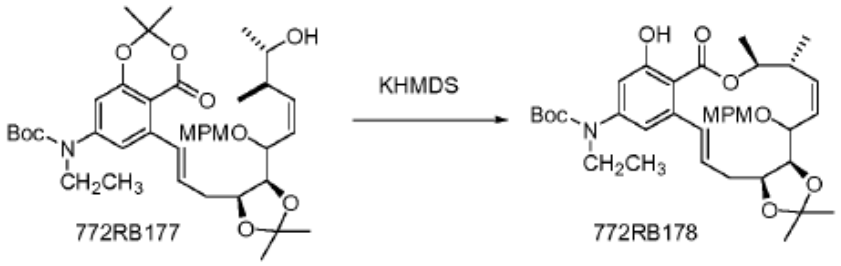


A una mixtura de 772RB168 (2,5 g, 4,95 milimoles) y triflato (2,7 g, 6,4 milimoles, 1,3 eq.), se añadió $Pd_2(dba)_3$ (1,36 g, 1,48 milimoles, 0,3 eq.) en la caja seca. Después de retirarse de la caja seca, la mixtura se suspendió en 8,3 mL de dioxano y se añadió N-metil-N-diciclohexanoamina (2,1 mL, 9,9 milimoles, 2 eq.). La reacción se calentó a 100ºC durante 12 horas con agitación enérgica. Después de enfriar, se añadieron 6 g de celita y se diluyó con EtOAc. La mixtura se filtró a través de una compresa de celita y se lavó con EtOAc. Los filtrados se concentraron. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice con 10-20% de EtOAc/hexanos para dar 3 g de 772RB172 puro (rendimiento 76%).

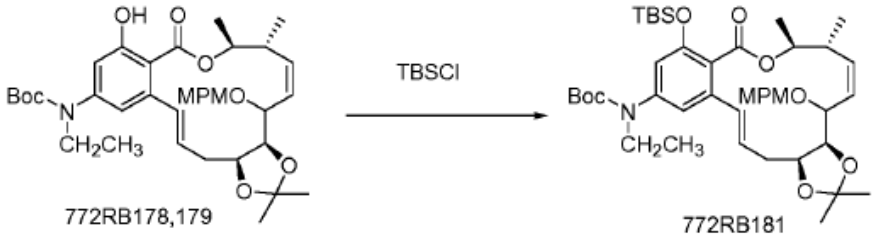
A una solución de 772RB173 (46,3 g, 58,16 milimoles) en DMPU (291 mL), se añadió LiHMDS (116 mL de solución 1M en THF, 116,3 milimoles, 2 eq.) a 0ºC. Después de agitar durante 40 min a dicha temperatura, se añadió EtI (27,9 mL, 349 mmol, 6 eq.). Después de 5 min, se calentó el todo a la temperatura ambiente. Después de agitar durante 3 horas, se enfrió con 1 L de $NHCl_4$ saturado a 0ºC. La mixtura se extrajo con MTBE/hexanos (1:1). Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice con 15-20% EtOAc/hexanos para dar 40 g del producto deseado, 772RB175 (rendimiento, 84%).



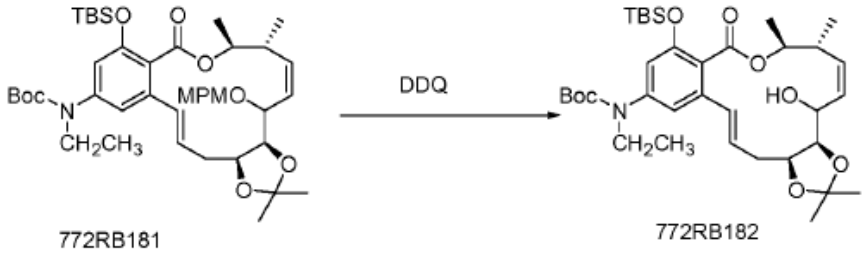
A una solución de 772RB175 (48 g, 58,2 milimoles) en 230 mL, se añadió una solución de TBAF (407 mL de solución 1M, 407 milimoles, 7 eq.) e imidazol·HCl (21,3 g, 203,9 milimoles, 3,5 eq.). La reacción se calentó a 60ºC durante 72 horas. Después de enfriar a la temperatura ambiente, se enfrió el todo con NH_4Cl saturado y se extrajo con éter (3 x). Las capas orgánicas se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice con 20-30% EtOAc/hexanos para dar 31,4 g (rendimiento 76%).



A una solución de 772RB177 (20,3 g, 28,6 g) en 3 L de THF, se añadió lentamente solución 0,5 M de KHMDS (60 mL, 30 milimoles, 1,05 eq.) mediante una bomba de jeringuilla en 120 min. Después de agitar durante 5 min, se enfrió con 1,5 L de NH_4Cl saturado. La mixtura se extrajo con éter (3 x). Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice con 10-20%-50% EtOAc/hexanos para dar 14,2 g del producto deseado (rendimiento 76%).

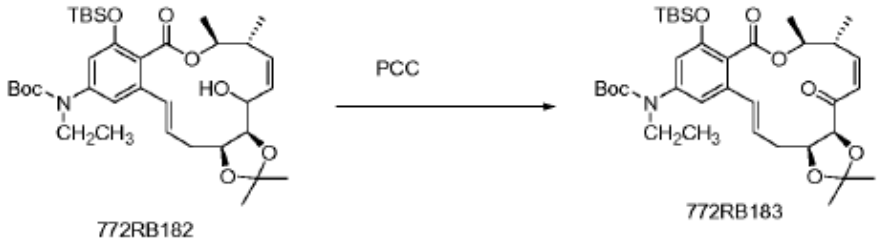


A una solución de 772RB178, 179 (19 g, 29,15 milimoles) en DMF (194 mL) se añadieron imidazol (4 g, 58,3 milimoles, 2 eq.) y TBSCl (5,27 g, 35 milimoles, 1,2 eq.). Después de agitar durante una noche, se enfrió con una solución saturada de $NaHCO_3$ y agua. La mixtura se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó y se concentró. El producto bruto se purificó en una columna de gel de sílice para dar 22 g (rendimiento 99%) del producto deseado.

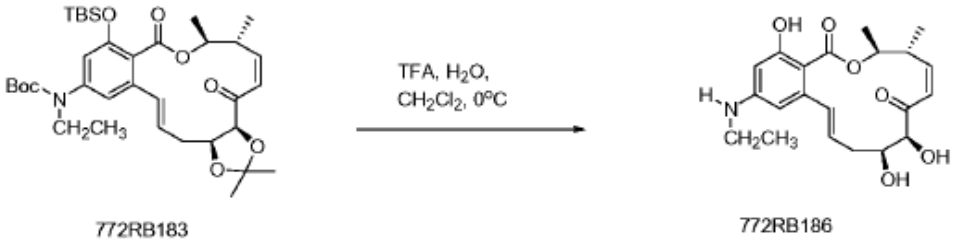


A una solución de 772RB181 (22 g, 28,7 milimoles) en una mixtura de CH_2Cl_2 (230 mL) y H_2O (57,4 mL), se añadió DDQ (9,78 g, 43 milimoles, 1,5 eq.) a 0ºC. Después de agitar durante 2 h, se enfrió con 1 L de una mixtura 1:1 de $NaHCO_3$ acuoso saturado y 10% de $Na_2S_2O_3$ acuoso. La mixtura se extrajo con 3 x 1 L de éter. Los extractos se

lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice para dar 18,1 g de producto puro.



A una solución de 772RB182 (18 g, 27,9 milimoles) en 279 mL de CH_2Cl_2, se añadieron tamices moleculares 4 A secos (18 g) y PCC (18 g). Después de agitar durante 90 min, se enfrió con Et_3N (19,45 mL). La mixtura de reacción se filtró a través de una compresa de celita, y se lavó la compresa con 75% EtOAc en hexanos (900 mL). Los filtrados se concentraron. El producto bruto se purificó en columna de gel de sílice con 10-15-20% EtOAc/hexanos para dar 14,6 g (81%) del producto puro.



En un matraz de 2 L, se disolvió 772RB183 (8,5 g, 13,2 milimoles) en CH_2Cl_2 (82,5 mL) y la mixtura se enfrió a 0ºC. Se añadió luego lentamente una solución de 5% H_2O/TFA (4,1/78,1 mL) (~ 30 min) y la mixtura se agitó a 0ºC durante 14,5 horas. La reacción se monitorizó por TLC. La mixtura de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 a 0ºC. La reacción se enfrió con una solución $NaHCO_3$ en agua (~ 1,2 eq., compárese con TFA). La reacción se enfrió a la temperatura ambiente. Se extrajo tres veces con CH_2Cl_2, se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La cromatografía en gel de Si, 50-60-75% EtOAc/hexano dio ER-806201: 4,8 g, rendimiento 93%.

Medida del efecto de los compuestos sobre la transcripción de TNF-α y β-actina PLAP (fosfatasa alcalina placentaria)

NF-κB es un factor crítico nuclear para regular diversos genes implicados en las respuestas inmune e inflamatoria (*véase*, Ghosh et al, Annu. Rev. Immunol. 1998, 16, 225). Está perfectamente caracterizado que la transcripción del gen TNFα se regula por activación de TNF-κB (*véase*, Drouet et al. J. Immunol. 1991, 147, 1694); por ello, se empleó el ensayo con transcripción de TNFα-PLAP para evaluar el efecto inhibidor de los compuestos de test sobre la activación de NF-κB.

Se construyó un plásmido TNFα-PLAP (promotor TNF-α + 5'-UTR (1,4 kb) + PLAP + SV40 poliA + PGK-neo, Goto et al. Mol. Pharmacol. 1996, 49, 860) con una ligera modificación en la cual se insertaba TNF-α-3'-UTR (772 p.b.) entre PLAP y SV40 poliA (promotor TNFα + 5'-UTR (1,4 kb) + PLAP + TNα-3'-UTR + SV40 poliA-PGKneo). A continuación, se establecieron células THP-1-33 por transfección estable del plásmido TNFα-PLAP modificado en células THP-1 (leucemia monocítica humana aguda). Con objeto de evaluar simultáneamente los efectos inespecíficos de los compuestos de test sobre la transcripción, se establecieron también células B164 por transfección estable del plásmido β-actina-PLAP (promotor β-actina (4,3 kb) + PLAP + SV40 poliA + PGKneo) en células THP-1, Las células THP-1-33 (TNFα-PLAP) producen actividad de PLAP por la estimulación con LPS; por el contrario, las células B164 (β-actina-PLAP) producen constantemente actividad de PLAP sin estímulos.

Las células THP-1-33 y células B164 se mantuvieron en RPMI1640 que contenía 10% de suero bovino fetal (FBS) exento de endotoxinas y desactivado por calor y G418 (1 mg/mL). Estas células se sembraron a una densidad de 1,0 x 10^4 células/pocillo en placas de 96 pocillos, y se cultivaron luego en presencia o ausencia de los compuestos de test durante 30 min, seguido por estimulación con 100 ng/mL de lipopolisacárido (*E. coli* 0127:B08 o 011:B4). Después del cultivo durante 40-48 horas, el sobrenadante del cultivo se recogió y se midió la actividad de fosfatasa alcalina en el sobrenadante.

La actividad de fosfatasa alcalina se cuantificó con el uso de un sustrato quimioluminiscente, 4-metoxi-4-(3-fosfatofenil)espiro[1,2-dioxetano-3,2'-adamantano]. Para desactivar la fosfatasa alcalina inespecífica del tejido

derivada principalmente de FBS, se calentaron muestras a 65ºC durante 30 min antes del ensayo de quimioluminiscencia. Se mezclaron partes alícuotas de 10 µL de sobrenadante del cultivo con 50 µL de tampón de ensayo (Na_2CO_3 0,28 M-$NaHCO_3$, pH 10,0, que contenía 8 mM de $MgSO_4$) en una placa Microlite™ de 96 pocillos (opaca), y se añadieron y mezclaron luego 50 mL de sustrato quimioluminiscente. Después de 60 min de incubación a la temperatura ambiente, se midió la quimioluminiscencia en estado estacionario con un luminómetro de microplaca.

La actividad de PLAP de cada muestra se calculó como sigue:

TNFα-PLAP % de control = (A-B) x 100/(C-B)

β-actina-PLAP % de control = (A) x 100/(C)

A: muestra/quimioluminiscencia de la muestra cultivada con el fármaco de test & estimulada con LPS

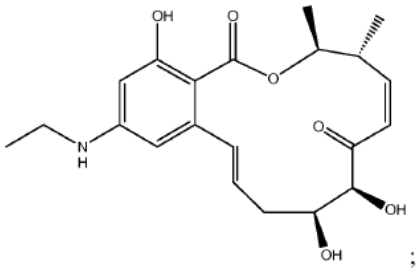
B: blanco/quimioluminiscencia de la muestra no estimulada

C: control/quimioluminiscencia de la muestra cultivada con LPS.

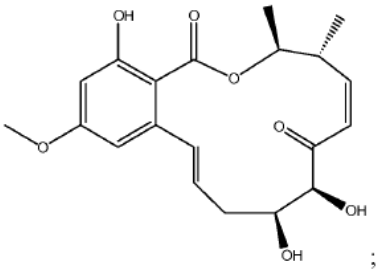
El valor CI_{50} de cada compuesto de test se calculó a partir de la curva dosis-respuesta inhibidora.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura:



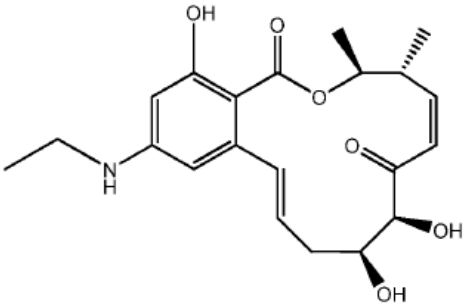
;



;

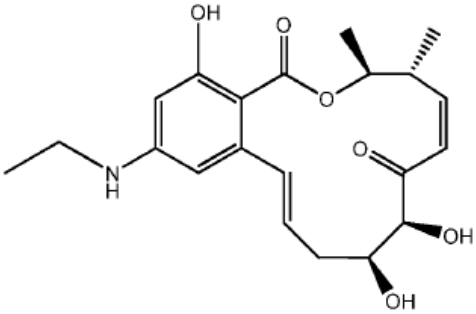
o una sal, éster o sal de éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el cual el compuesto es:



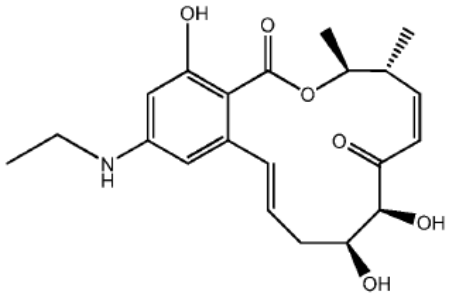
o una sal, éster o sal de éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el cual el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4.El compuesto de la reivindicación 1, en el cual el compuesto es:



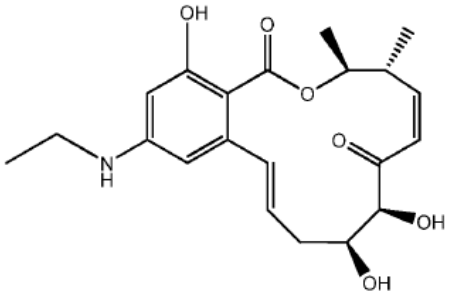
5. Una composición farmacéutica que comprende:

un compuesto conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un portador farmacéuticamente aceptable.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual la composición es una formulación tópica.

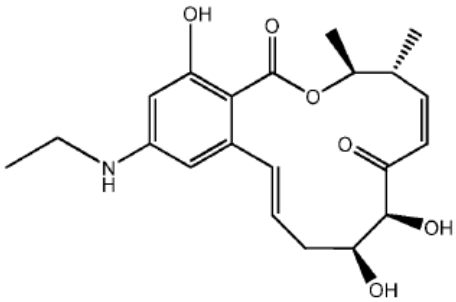
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual la composición comprende adicionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual el compuesto es:



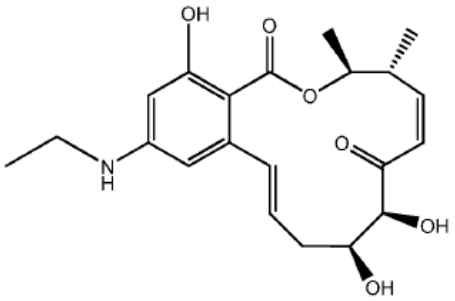
o una sal, éster o sal de éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual el compuesto es:



11. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en la inhibición de la proliferación de células cancerosas y angiogénesis en tumores sólidos.

12. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio.

13. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en el tratamiento de la psoriasis.

14. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en la reducción del fotodeterioro de la piel.

15. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para uso en la prevención de la restenosis.

16. Un compuesto conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio y/o autoinmune o un trastorno resultante de angiogénesis y/o proliferación celular aumentadas, en el cual dichos trastornos se seleccionan del grupo constituido por artritis reumatoide, psoriasis, asma, cáncer, sepsis, enfermedad intestinal inflamatoria, dermatitis atópica, enfermedad de Crohn, y trastornos autoinmunes.

17. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso en el tratamiento de la artritis reumatoide.

18. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso en el tratamiento de la psoriasis.

19. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso en el tratamiento del asma.

20. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso en el tratamiento del cáncer.

21. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso en el tratamiento de cánceres de tumores sólidos, leucemia, linfomas, linfomas de células B distintos del Hodgkin, leucemia linfocítica crónica o mieloma múltiple.

22. El compuesto para uso de la reivindicación 16, en el cual el compuesto está destinado a uso por administración a un nivel de dosificación de 0,001 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal del individuo por día.

23. El compuesto para uso de la reivindicación 22, en el cual el compuesto está destinado a uso por administración a una dosis de 0,01 mg/kg a 25 mg/kg de peso corporal del individuo por día.

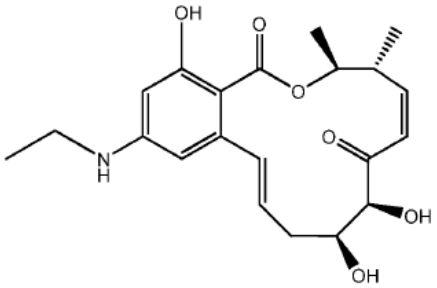
24. El compuesto para uso de la reivindicación 23, en el cual el compuesto está destinado a uso a una dosis de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal del individuo por día.

25. Uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio y/o autoinmune o un trastorno resultante de angiogénesis y/o proliferación celular aumentadas, en el cual dichos trastornos se seleccionan del grupo constituido por artritis reumatoide, psoriasis, asma, cáncer, sepsis, enfermedad intestinal inflamatoria, dermatitis atópica, enfermedad de Crohn, y trastornos autoinmunes.

26. El uso de la reivindicación 25, en el cual el trastorno es psoriasis.

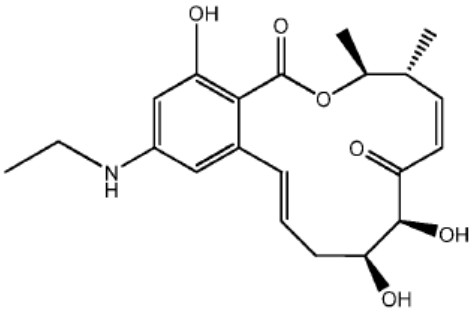
27. El uso de la reivindicación 25, en el cual el trastorno es cáncer.

28.El uso de la reivindicación 25, en el cual el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

29. El uso de la reivindicación 25, en el cual el compuesto es:



.