

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 978 159**

51 Int. Cl.:

|                    |                               |           |
|--------------------|-------------------------------|-----------|
| <b>A61P 35/00</b>  | (2006.01) <b>A61K 31/426</b>  | (2006.01) |
| <b>C07D 213/75</b> | (2006.01) <b>A61K 31/428</b>  | (2006.01) |
| <b>C07D 213/22</b> | (2006.01) <b>A61K 31/433</b>  | (2006.01) |
| <b>C07D 215/42</b> | (2006.01) <b>A61K 31/4439</b> | (2006.01) |
| <b>C07D 417/12</b> | (2006.01)                     |           |
| <b>C07D 417/14</b> | (2006.01)                     |           |
| <b>A61K 31/381</b> | (2006.01)                     |           |
| <b>A61K 31/415</b> | (2006.01)                     |           |
| <b>A61K 31/42</b>  | (2006.01)                     |           |
| <b>A61K 31/421</b> | (2006.01)                     |           |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2017** **PCT/EP2017/072930**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.03.2018** **WO18050656**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2017** **E 17768078 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2024** **EP 3512602**

54 Título: **Inhibidores de factores de choque térmico (HSF) y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**16.09.2016 US 201662495501 P**  
**02.02.2017 US 201762499650 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la  
traducción de la patente:  
**06.09.2024**

73 Titular/es:

**HSF PHARMACEUTICALS (100.0%)**  
**67 avenue de Sully**  
**1814 La Tour-de-Peilz, CH**

72 Inventor/es:

**VILABOA, NURIA y**  
**VOELLMY, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

Observaciones:

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

ES 2 978 159 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de factores de choque térmico (HSF) y usos de los mismos

Campo técnico

La presente exposición se refiere a inhibidores de factores de choque térmico y a usos de los mismos en el tratamiento de enfermedades y otras afecciones que dependen o resultan potenciadas por la actividad de factores de choque térmico.

Antecedentes de la invención

Los genes de choque térmico se encontraron hace más de 50 años como genes cuya actividad se incrementaba en las células expuestas a temperaturas elevadas (con frecuencia aproximadamente 5 °C superiores a las normales). Ritossa, F. (1962) Cellular and Molecular Life Sciences 18: 571-573. Los productos proteicos de dichos genes, las proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés), fueron identificados unos diez años después. Debido a que sus funciones eran desconocidas en aquel momento, las HSP fueron clasificadas según los pesos moleculares (en kDa) de sus subunidades, por lo que se denominaron HSP90, HSP70, HSP60, etc. La investigación posterior de los genes y proteínas inducibles por calor reveló que el grupo también incluía genes codificantes de proteínas con funciones previamente conocidas, tales como heme oxidasa, ubiquitina, FKBP52, MDR1, LDH-A, etc. También se encontró que existían genes homólogos codificantes de proteínas (HSC) altamente relacionadas con las HSP, la actividad de cuyos genes no se incrementaba en respuesta al calor. A medida que se conocían mejor las funciones de las HSP, dicho último resultado empezó a cobrar sentido: muchas HSP actúan como chaperonas moleculares y desempeñan funciones importantes en la homeostasis normal (proteostasis) y tráfico de las proteínas. Por lo tanto, una célula no sometida a calentamiento mantiene niveles sustanciales de HSC y HSP. Al someterla a calentamiento, activa o potencia la actividad de genes de choque térmico inducibles (genes *hsp*), resultando en niveles elevados de HSP. La última reacción se denomina respuesta de proteínas de choque térmico. Debido a que no solo el tratamiento térmico, sino también la exposición a un amplio abanico de compuestos químicos perjudiciales activa genes *hsp* inducibles, las expresiones «genes de proteína de estrés», «proteínas de estrés» y «respuesta de proteínas de estrés» se utilizan frecuentemente en lugar de «genes de proteínas de choque térmico», «proteínas de choque térmico» y «respuesta de proteínas de choque térmico».

La exposición de las células a temperaturas superiores a las normales (estrés térmico) o el estrés químico conducen a la degradación del control de la calidad de las proteínas y puede resultar en la activación de mecanismos apoptóticos. Los niveles elevados de HSP resultantes de la sobreexpresión forzada o de una exposición a estrés moderada (preacondicionamiento al estrés) inhiben los mecanismos apoptóticos y contrarrestan la degradación del control de la calidad de las proteínas. Se ha mostrado que el preacondicionamiento al estrés produce una tolerancia transitoria que permite que las células sobrevivan a condiciones de estrés intenso que normalmente resultarían letales. La sobreexpresión de las HSP se ha observado que produce efectos «terapéuticos» en diversos modelos de enfermedad, p. ej., en modelos de isquemia del corazón o del cerebro, o afecciones neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de la poliglutamina. Se indica que la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y todas las ataxias se consideran enfermedades de pliegue de las proteínas. Por lo tanto, no resulta inesperado que la provisión de HSP adicionales, es decir, de capacidad de chaperona adicional, puede ser un medio eficaz para atenuar o prevenir dichas enfermedades. Akerfelt, M., Morimoto, R.I. y Sistonen, L. (2010) Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 11: 545-555; Parsell, D.A. y Lindquist, S. 1993. Annu. Rev. Genet. 27: 437-496.

La expresión de los genes está mediada por los denominados «promotores», que son regiones de secuencia asociados al gen capaces de interactuar con factores de transcripción y componentes de la maquinaria de transcripción. La inducción por estrés de los genes *hsp* es proporcionada por las denominadas secuencias HSE presentes dentro de los promotores de estos genes (promotores de *hsp*). Los HSE son sitios de unión para los factores de choque térmico (también denominados factores de transcripción de choque térmico) (HSF, por sus siglas en inglés), en particular HSF1. HSF1 es un factor de transcripción de expresión ubicua que normalmente está presente en una forma inactiva pero que resulta reversiblemente activado cuando una célula experimenta un estrés térmico o químico. Las células de vertebrado normalmente también expresan otro u otros HSF, p. ej., HSF2, HSF3 (aviar) o HSF4. Akerfelt, M., Morimoto, R.I. y Sistonen, L. (2010) Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 11: 545-555; Voellmy, R. y Boellmann, F. (2007) Adv. Exp. Med. Biol. 594: 89-99.

Los HSF, incluyendo HSF1, no son esenciales para la vida normal de una célula de mamífero o incluso de un organismo mamífero, aunque los ratones que carecen de HSF1, HSF2 o HSF4 muestran fenotipos importantes. Jin, X. et al. (2011) Meth. Mol. Biol. 787: 1-20. Las células u organismos de mamífero que no expresan HSF1 son incapaces de inducir la expresión de HSF, además de presentar una sensibilidad elevada al estrés. McMillan, D.R. et al. (1998) J. Biol. Chem. 273: 7523-7528; Xiao, X. et al. (1999) EMBO J. 18: 5943-5952; Christians, E.S. y Benjamin, I.J. (2006) Handb. Exp. Pharmacol. 172: 139-152.

Las investigaciones realizadas a lo largo de los últimos diez años ha llevado a pensar que HSF1 es una nueva y prometedora diana para la terapia del cáncer. Se ha mostrado que HSF1 resulta crucialmente importante para una

tumorigénesis efectiva en varios modelos tumorales humanos diferentes. También se ha encontrado que HSF1 desempeña un papel esencial en el mantenimiento (viabilidad) de una variedad de diferentes líneas celulares tumorales humanas, incluyendo las líneas de cáncer de mama (de diferente estado de p53, sobreexpresión de HER2, sensibilidad a estrógeno y potencial metastásico), de cuello uterino, prostático, de vaina nerviosa y de cáncer renal y de melanoma. Dai, C. et al. (2007) Cell 130: 1005-1018; Khaleque, M. et al. (2005) Oncogene 24: 6564-6573; Meng, L. et al. (2010) Oncogene 29: 5204-13; Nakamura, Y. et al. (2010) J. Dermatol. Sci. 60: 187-192; Solimini, N. et al. (2007) Cell 130: 986-988; Whitesell, L. y Lindquist, S. (2009). Expert Opin. Ther. Targets 13: 469-478; Zhao, Y. et al. (2009) Oncogene 28: 3689-3701. Más recientemente, se ha mostrado que HSF1 regula un programa transcripcional específico de las células altamente malignas, que difiere del programa inducido por el estrés térmico. Mendillo, M.L. et al. (2012) Cell 150: 549-562.

Hasta donde se conoce hasta la fecha, la actividad de HSF1 está controlada por interacciones con varias otras proteínas y las actividades de enzimas modificadores (proteína quinasas, etc.). De las proteínas o enzimas conocidos que afectan a la actividad de HSF1, ninguno es específico de HSF1. El uso como diana de cualquiera de las proteínas o enzimas anteriores con la intención de inhibir también la actividad de HSF1 se espera que presente efectos pleiotrópicos que probablemente se manifiesten en toxicidad general excesiva de los compuestos inhibidores. Por lo tanto, los agentes anticáncer más deseables que actúan mediante la inhibición de la actividad de HSF1 serían compuestos que interactúan directa y específicamente con el factor de transcripción. Whitesell, L. y Lindquist, S. (2009); Voellmy, R. (2006) Handb. Exp. Pharmacol. 172: 43-68. La presente exposición se refiere a la identificación de inhibidores de HSF y a sus usos, p. ej., como agentes anticáncer.

Se han descrito anteriormente moduladores de la respuesta de choque térmico (Powers et al. (2007) FEBS Letters 581: 3758-3769). Entre los inhibidores de la respuesta de choque térmico mencionados se incluyen la quercetina y KNK437. Ninguno de los inhibidores revisados por Powels et al. o descritos por otros es estructuralmente similar a los inhibidores de HSF de la presente exposición.

#### Descripción resumida de la invención

El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones y cualquier información que no esté comprendida en las reivindicaciones se proporciona con fines exclusivamente informativos.

Las referencias a métodos de tratamiento en los párrafos siguientes de la presente descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención, para la utilización en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para el diagnóstico).

En la presente memoria se define un inhibidor de HSF (también denominado inhibidor de HSF o IHSF en la presente memoria) como un compuesto de molécula pequeña que es capaz de inhibir la función prototípica de HSF1 de mamífero, especialmente humano, cuya función es mediar en la expresión inducida por estrés (p. ej., inducida térmicamente) (es decir, la acumulación transitoria de transcritos y/o productos proteicos) de genes que están funcionalmente asociados a promotores inducibles por estrés (es decir, promotores que contienen HSE). Estos últimos genes también se denominan genes diana de HSF. (Son genes diana de múltiples HSF, ya que HSF1, 2 y 4 generalmente son capaces de unirse a secuencias de HSE). La expresión «molécula pequeña» presentará el significado específico definido en la presente especificación.

En un aspecto, el inhibidor de HSF es una molécula pequeña que se ajusta al farmacóforo A4 que se ha establecido basándose en las características pertinentes de la cavidad A predicha del dominio de unión a ADN del HSF1 humano utilizando métodos bien conocidos de la técnica. La cavidad A del HSF1 humano está definida por los residuos aminoácidos Val70, Leu73, Asn74, Phe78, Arg79, Lys80, Thr97, Glu98 y Phe99, con referencia a la secuencia de aminoácidos de HSF1 mostrada en UniProtKB - Q00613 (HSF1\_HUMAN), también mostrada en SEC ID n.º 1. Se indica que la cavidad A puede identificarse fácilmente en otros HSF de mamífero, dado el elevado grado de conservación de la secuencia entre los HSF de mamífero. La información estructural reciente sobre el HSF1 humano, las estructuras cristalinas 5D5U y 5D5V y la estructura de RMN 2LDU, y sobre el HSF2 humano, las estructuras cristalinas 5D8K y 5D8L, indican que se encuentra presente una cavidad similar a la cavidad A predicha tanto en HSF1 como en HSF2, aunque las formas pueden diferir ligeramente. Sin embargo, la estructura de RMN de 2LDU presenta 20 soluciones diferentes que cumplen con los datos de RMN, mostrando que los residuos que revisten la cavidad, pueden modelizarse en diferentes posiciones. Dado que pueden generarse varias conformaciones de proteína que satisfacen los datos de RMN, se encuentran potencialmente disponibles más conformaciones y la cavidad A predicha representa una conformación factible. Basándose en las similitudes entre las estructuras cristalinas de HSF1 y HSF2, podría esperarse que los inhibidores de HSF que satisfacen las restricciones del farmacóforo A4 no solo son inhibidores de HSF1 sino también de otros HSF, en particular, HSF2 de mamífero, incluyendo HSF2 humano.

El farmacóforo A4 de 3 puntos está definido por un primer punto aceptor de enlace de hidrógeno, un segundo punto aceptor de enlace de hidrógeno y un punto lipofílico, en donde la distancia entre el primer y segundo puntos aceptores de enlace de hidrógeno es de 9,495 Å (angstroms), la distancia entre el primer punto aceptor de enlace de hidrógeno y el punto lipofílico es de 7,992 Å y la distancia entre el segundo punto aceptor de enlace de hidrógeno y el punto lipofílico es de 5,153 Å. El radio en torno a cada punto farmacofórico se fijó en 2,0 Å («esfera de inclusión»), lo que

significa que una molécula pequeña debe presentar una característica apropiada dentro de la esfera de inclusión de cada punto farmacofórico para ser considerada un inhibidor de HSF de la presente realización particular. Un inhibidor preferente de HSF de la presente realización particular presenta una puntuación global «FitValue» de por lo menos 1,0. En el caso de que una característica relevante de una molécula pequeña se encuentre en el centro de la esfera de inclusión en torno a un punto farmacofórico exactamente, recibirá un valor FitValue de 1,0. Los valores FitValue se reducen de 1,0 a 0 de centro a periferia de la esfera de inclusión. La puntuación FitValue global máxima es 3,0 (1,0 por cada punto farmacofórico). Se hace referencia a los inhibidores de HSF de la presente realización particular como (habiendo sido) diseñados para unirse a la cavidad A de un HSF de mamífero.

La presente exposición se refiere, además, a una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis en un sujeto mamífero (en particular, un ser humano) o para la utilización en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad o afección que está mediada o potenciada por la actividad de un HSF, en particular un HSF1, en donde la composición comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de la invención.

La enfermedad tratada puede ser una enfermedad proliferativa. La enfermedad hiperproliferativa puede ser un cáncer, o más específicamente, un cáncer seleccionado del grupo que consiste en un cáncer de cuello uterino, un cáncer de mama, un cáncer pulmonar, un cáncer prostático, un cáncer ovárico, un neuroblastoma, un cáncer de vaina de nervio periférico, una leucemia, un mieloma, un cáncer hepático y un osteosarcoma.

En otra realización, la presente exposición se refiere a un método para inhibir o reducir la función de un HSF, en particular HSF1, en una célula de mamífero, preferentemente una célula humana, que comprende exponer la célula a una concentración eficaz de un inhibidor de HSF, el cual se caracteriza posteriormente. La célula de mamífero puede ser una célula en cultivo o una célula de un organismo de mamífero. Tal como se ha mencionado anteriormente, en el caso de HSF1, la expresión «función de un HSF» se refiere normalmente a la capacidad de HSF1 de mediar en la expresión inducida de genes que están funcionalmente relacionados con promotores inducibles que contienen HSE, y la expresión «concentración eficaz» se refiere a una concentración que reduce detectablemente la expresión inducida de por lo menos uno de dichos genes, en donde la expresión puede medirse al nivel de transcrito o de producto proteína.

#### Breve descripción de las figuras

Figura 1. Caracterización de las células Z74. (A) las células Z74 contienen un gen *rluc* asociado a un promotor génico *hsp70B* controlado por HSF1 endógeno (HSF1e), un gen expresable para el factor de transcripción quimérico LexA-HSF1, y un gen *fluc* controlado por un promotor sensible a LexA-HSF1. (B, C) El calor transitorio estimula las actividades transcripcionales de HSF1e y LexA-HSF1, lo que resulta en una expresión incrementada de los genes *fluc* y *rluc*, respectivamente. Las células se dejaron sin tratar (-), se trataron por calor a 43 °C (HS, por sus siglas en inglés) para los periodos de tiempo indicados (B) o, calentados a diferentes temperaturas durante 30 min (C). Se sometieron a ensayo RLuc (columnas negras) y FLuc (columnas blancas) durante 6 h después del tratamiento térmico. CMV: promotor temprano del citomegalovirus.

Figura 2. (A) Inhibición de la expresión de RLuc por  $I_{HSF}$  001 en células Z74. Los cultivos se expusieron simuladamente (-) o se expusieron a concentraciones crecientes de  $I_{HSF}$  y, 2 horas después, se sometieron a calor (HS) a 43 °C durante 30 min. Se midieron las actividades de RLuc (columnas negras) y de FLuc transcurridas 6 horas desde el HS. Se muestran las actividades relativas. (B) Inhibición de la expresión de RLuc por  $I_{HSF}$  115 en células Z74. (C) Sensogramas de resonancia de plasmón superficial (SPR, por sus siglas en inglés), indicando la unión de  $I_{HSF}$  058 y  $I_{HSF}$  115 dependiente de la concentración a HSF1 humano etiquetado con His recombinante (HSF1wt-His) y fragmento de dominio de unión a ADN de HSF1 etiquetado con His (HSF1DBD-His). Las respuestas mostradas son a 500, 250, 125, 62,5, 31,3 y 15,6  $\mu$ M de  $I_{HSF}$  115, y a 250, 125, 62,5, 31,3, 15,6, 7,81 y 3,91  $\mu$ M de  $I_{HSF}$  058, respectivamente.

Figura 3. (A) Se trataron simuladamente cultivos de células HeLa (-) o se expusieron durante 2 horas a las concentraciones indicadas de los compuestos 058 y 115 y después se trataron por calor (HS) a 43 °C durante 30 min. Paneles superiores. Se determinaron mediante ensayo de cambio de movilidad electroforética (EMSA, por sus siglas en inglés) las actividades de unión a ADN de HSF1 en los extractos celulares. Los paneles muestran los complejos de sonda de ADN HSF1-HSE principales. Paneles intermedios: niveles de HSF1 sometidos a ensayo mediante transferencia western (TW). Se utilizó GAPDH como control de carga. Paneles inferiores: Homooligomerización de HSF1 Se trataron con EGS alícuotas de extractos y después se analizaron mediante TW anti-HSF1. Las posiciones de proteínas marcadoras de peso molecular (PM, en miles) preteñidas se indican a la derecha. Los asteriscos indican las posiciones de HSF1 monomérico y trimérico, respectivamente. (B) Se evaluó el nivel de ocupación relativo del promotor *hspa1a* mediante ensayo de inmunoprecipitación de cromatina de cultivos de células HeLa simuladamente tratadas (-) o tratadas con el compuesto 058 o 115 a concentraciones de 12,5  $\mu$ M durante 2 horas y después se trataron por calor (HS) a 43 °C durante 30 min. Los fragmentos de cromatina se inmunoprecipitaron utilizando anticuerpos de HSF1 o un anticuerpo de F4/80 LR (control) y se cuantificó el ADN de promotor *hspa1a* mediante PCR en tiempo real.

Figura 4. (A) Niveles de ARNm de *rluc*, *hspa7* y *hspa1a* en células Z74 simuladamente expuestas (-) o expuestas a las concentraciones indicadas de compuesto 058 o 115 durante 2 horas, tratadas por calor (HS) a 43 °C durante 30 min y postincubadas durante una hora a 37 °C. Los niveles de ARNm se cuantificaron mediante transcripción inversa-PCR en tiempo real. (B) Niveles de HSP72 en células HeLa simuladamente expuestas (-) o expuestas a

las concentraciones indicadas de compuesto 058 o 115 durante 2 horas, tratadas por calor (HS) a 43 °C durante 30 min y postincubadas durante 6 horas a 37 °C. Los niveles de HSP72 se estimaron mediante TW de HSP72. Los niveles de GAPDH sirvieron como «controles de carga».

Figura 5. (A) Viabilidad de cultivos de células HeLa simuladamente expuestos (-) o expuestos a las concentraciones indicadas de compuesto 001, 058 o 115. (B) Viabilidad de células MM.1S simuladamente expuestas (-) o expuestas a las concentraciones indicadas de compuesto 115. Se sometió a ensayo la viabilidad tras 96 horas de exposición utilizando un ensayo de azul Alamar.

Figura 6. (A) Cultivos de células HeLa se expusieron simuladamente (-) o se expusieron a las concentraciones indicadas de compuesto 115 durante 24 horas (panel izquierdo) o 96 horas (panel derecho). La viabilidad celular de cultivos totales, células flotantes y células adheridas se sometió a ensayo utilizando un ensayo de azul Alamar. (B) Cultivos de células HeLa se expusieron simuladamente (-) o se expusieron a las concentraciones indicadas de compuesto 115 durante 15 a 96 horas. Se utilizó la exclusión de pigmento de azul tripán para determinar el número de células vivas (panel izquierdo) y los niveles relativos de células necróticas (panel derecho). (C) Cultivos de células HeLa se expusieron simuladamente (-) o se expusieron a las concentraciones indicadas de compuesto 115 durante 6 y 24 h. Se muestran los niveles relativos de células en apoptosis temprana (positivas para anexina, negativas para 7-amino-actinomicina-D). (D) Análisis de citometría de flujo de ADN de cultivos de células HeLa simuladamente expuestos (-) o expuestos a las concentraciones indicadas de compuesto 115 durante 6, 15 y 24 horas. Se indican los niveles relativos de células apoptóticos.

Figura 7. (A) Panel superior: Niveles de HSF1 en cultivos de control de KD y células KD13 sometidas a ensayo mediante TW. Panel inferior: número de células vivas KD de control y KD13 tras 1 a 4 días de cultivo según determinación mediante exclusión de pigmento azul tripán. (B) Viabilidad de células KD de control y KD13 expuestas simuladamente (-) o expuestas a las concentraciones indicadas de compuesto 115 durante 96 h. Se sometió a ensayo la viabilidad celular mediante ensayo de azul Alamar.

Figura 8. Procedimientos experimentales generales para la síntesis de inhibidores de HSF1.

Figura 9. Inhibición del crecimiento tumoral mediada por  $I_{HSF}$  115. QD: cada día.

## Descripción detallada

### Definiciones

A menos que se defina de otro modo, todos los términos presentan sus significado habitual en el campo correspondiente. Se definen los términos siguientes y presentarán los significados siguientes:

El término «alqueniilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene entre 2 y 10 carbonos y que contiene por lo menos un doble enlace carbono-carbono formado mediante la eliminación de dos hidrógenos. Entre los ejemplos representativos de alqueniilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo y 3-decenilo.

El término «alqueniiloxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alqueniilo tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo oxi, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, etoxi, 2-propoxi, 2-metil-2-propoxi, 3-butoxi y similares.

El término «alcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un átomo de oxígeno. Entre los ejemplos representativos de alcoxi se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi, terc-butoxi, pentiloxi y hexiloxi.

El término «alcoxialquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de alcoxialquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, terc-butoximetilo, 2-etoxietilo, 2-metoxietilo y metoximetilo.

El término «alcoxialquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

El término «alcoxialqueniilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alqueno.

El término «alcoxialquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquino.

El término «alcoxicarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define

en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de alcoxicarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo y terc-butoxicarbonilo.

El término «alcoxicarbonilalcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcoxicarbonilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene entre 1 y 10 átomos de carbono. El término «alquilo» tal como se relaciona con los compuestos de la presente exposición, se refiere a alquilo C<sub>1</sub>, alquilo C<sub>2</sub>, alquilo C<sub>3</sub>, alquilo C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>5</sub>, alquilo C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>7</sub>, alquilo C<sub>8</sub>, alquilo C<sub>9</sub>- o alquilo C<sub>10</sub>. Entre los ejemplos representativos de alquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo.

El término «alquil(alquil)N-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un átomo de nitrógeno, unido a la fracción molecular parental que está sustituida con dos grupos alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquil(alquil)N-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un alquil(alquil)N-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un alquil(alquil)N-alquilo», tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-», tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilcarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de alquilcarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, acetilo, 1-oxopropilo, 2,2-dimetil-1-oxopropilo, 1-oxobutilo y 1-oxopentilo.

El término «alquilcarbonil-NH-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilcarbonilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un átomo de nitrógeno no sustituido, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilcarbonil-NH-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilcarbonil-NH, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilcarbonil-NH-alquilo», tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquilsulfonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo sulfonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de alquilsulfonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilsulfonilo y etilsulfonilo.

El término «alquiltio», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un átomo de azufre.

El término «alquiltioalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alquiltio, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «alquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene entre 2 y 10 átomos de carbono y que contiene por lo menos un triple enlace carbono-carbono. Entre los ejemplos representativos de alquinilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, acetilenilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 3-butinilo, 2-pentinilo y 1-butinilo.

El término «arilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo fenilo o a un anillo arilo bicíclico o un anillo arilo tricíclico. Los grupos arilo de la presente exposición pueden unirse a la fracción molecular parental mediante cualquier átomo de carbono dentro del grupo arilo, manteniendo simultáneamente la valencia correcta. El anillo de arilo bicíclico consiste en un grupo fenilo fusionado con un grupo cicloalquilo distal o un grupo fenilo fusionado con un grupo cicloalqueno distal o un grupo fenilo fusionado con un grupo heteroarilo distal, o un grupo fenilo fusionado con un grupo heterociclo distal. Entre los ejemplos representativos del anillo arilo bicíclico se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2,3-dihidro-1H-indenilo, 1H-indenilo, naftilo, 7,8-dihidronaftalenilo y 5,6,7,8-tetrahidronaftalenilo. El anillo arilo tricíclico consiste en un anillo arilo bicíclico fusionado con un grupo cicloalquilo o un anillo arilo bicíclico fusionado con un grupo cicloalquilo o el anillo arilo bicíclico fusionado con otro grupo fenilo. Entre los ejemplos representativos de anillo arilo tricíclico se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, antracenilo, azuleno, 9,10-dihidroantracenilo, fluorenilo y 4b.8a.9,10-tetrahidrofenantrenilo.

Los grupos arilo de la presente exposición pueden sustituirse con 0, 1, 2, 3 o 4 sustituyentes que se seleccionan independientemente. Los sustituyentes independientes pueden seleccionarse del grupo que consiste en hidroxil, formilo, alquilcarbonilo, alcoxi, alquiltio, alquiltioalquilo, alcoxialcoxi, alcoxicarbonilo, alcioxialquenilo, alcioxialquinilo, alcxicarbonil-alcoxi, alquilo, alquenilo, alqueniloxi, alquenytltio, alquinilo, alquinitio, cicloalquilo, cicloalquiltio, cicloalquilalcoxi, cicloalquilalquiltio, cicloalquenilalcoxi, cicloalquenilalquiltio, alquil-SO<sub>2</sub>-acriló, arilalquilo, ariloxi, ariltio, arilalquenilo, arilalquinilo, arilcarbonilo, arilalcxicarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterocicloalcoxi, heterocicloalquiltio, heterocicloalquinilo, heterociclocarbonilo, heterociclooxicarbonilo, ciano, cianoalquilo, cianoalcoxi, cianoalquiltio, cianoalquinilo, cianoalquenilo, cianoalquenilalcoxi, cianoalquenilalquiltio, halógeno, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalcoxi, hidroxiálquilo, hidroxiálquenilo, hidroxiálquinilo, hidroxiálcoxi, hidroxiálquiltio, dihidroxiálcoxi, dihidroxiálquiltio, nitró, R<sub>f</sub>-O-, R<sub>f</sub>-S-, HO-N=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0,1 or 2-</sub>, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquenilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)alcoxi-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NSO<sub>2</sub>alcoxi-, y R<sub>w</sub>-O-N=CH-, en los que alquilo puede estar sustituido opcionalmente con O= y R<sub>t</sub>N=; R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> se seleccionan, cada uno individualmente, del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquenilcarbonilo, alquilsulfonilo, alquilcarbonilo, alcxicarbonilo, alcxicarbonilalquilo, alcxicarbonilalquilcarbonilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilcarbonilo, ariloxicarbonilo, arilalquilocarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterociclocarbonilo, heterocicloalquilcarbonilo, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalquilcarbonilo, haloalquilcarbonilo, heterociclooxicarbonilo hidroxiálquilo e hidroxiálquilcarbonilo; R<sub>t</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y HO-; R<sub>f</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alcxiálquilo, alquiltioalquilo y haloalquilo; R<sub>w</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-alquilo, alquilo, alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-alquilo, hidroxiálquil-NHC(O)-alquilo, heterocicloalquil-NHC(O)-alquilo, heterociclo-NHC(O)-alquilo y heteroarilalquil-NHC(O)-alquilo. Alternativamente, los sustituyentes pueden seleccionarse del grupo que consiste en hidroxil, formilo, alquilcarbonilo, alcoxi, alquiltio, alquiltioalquilo, alcxiálcoxi, alcxicarbonilo, alcxiálquenilo, alcxiálquinilo, alcxicarbonil-alcoxi, alquilo, alquenilo, alqueniloxi, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalcoxi, cicloalquenilalcoxi, alquil-SO<sub>2</sub>-acriló, arilalquilo, ariloxi, arilalquenilo, arilalquinilo, arilcarbonilo, arilalcxicarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterocicloalcoxi, heterocicloalquinilo, heterociclocarbonilo, heterociclooxicarbonilo, ciano, cianoalquilo, cianoalcoxi, cianoalquinilo, cianoalquenilo, cianoalquenilalcoxi, halógeno, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalcoxi, hidroxiálquilo, hidroxiálquenilo, hidroxiálquinilo, hidroxiálcoxi, dihidroxiálcoxi, nitró, R<sub>f</sub>-O-, HO-N=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0,1 or 2-</sub>, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquenilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)alcoxi-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NSO<sub>2</sub>alcoxi-, y R<sub>w</sub>-O-N=CH-, en los que alquilo puede estar sustituido opcionalmente con O= y R<sub>t</sub>N=; R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> se seleccionan, cada uno individualmente, del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquenilcarbonilo, alquilsulfonilo, alquilcarbonilo, alcxicarbonilo, alcxicarbonilalquilo, alcxicarbonilalquilcarbonilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilcarbonilo, ariloxicarbonilo, arilalquilocarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterociclocarbonilo, heterocicloalquilcarbonilo, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalquilcarbonilo, haloalquilcarbonilo, heterociclooxicarbonilo hidroxiálquilo e hidroxiálquilcarbonilo; R<sub>t</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y HO-; R<sub>f</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alcxiálquilo, alquiltioalquilo y haloalquilo; R<sub>w</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-alquilo, alquilo, alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-alquilo, hidroxiálquil-NHC(O)-alquilo, heterocicloalquil-NHC(O)-alquilo, heterociclo-NHC(O)-alquilo y heteroarilalquil-NHC(O)-alquilo.

El término «arilalcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos de arilalcoxi se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2-feniletoksi, 3-naft-2-ilpropoxi y 5-fenilpentiloxi.

El término «arilalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de arilalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, bencilo, 2-feniletilo, 3-fenilpropilo y 2-naft-2-iletilo.

El término «arilalquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en

la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquino, tal como se define en la presente memoria.

El término «arilalquiloxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilalquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo oxo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de arilalquiloxi se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, benciloxi y fenilpropoxi.

El término «arilalquilocarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilalquiloxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de arilalquilocarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, carboxilato de bencilo y carboxilato de fenilpropilo.

El término «arilcarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de arilcarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, benzoílo y naftoílo.

El término «ariloxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo oxo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de grupos ariloxi se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, fenoxi.

El término «ariloxicarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo ariloxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de grupos ariloxicarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, fenoxicarbonilo.

El término «biarilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo arilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de biarilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 4-bifenilo, 3-bifenilo y 2-bifenilo.

El término «carbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo  $-C(O)-$ .

El término «ciano», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo  $-CN$ .

El término «cianoalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo ciano, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de cianoalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cianometilo, 2-cianoetilo y 3-cianopropilo.

El término «cianoalcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo ciano, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

El término «cianoalquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo ciano, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquino, tal como se define en la presente memoria.

El término «cicloalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un sistema de anillos monocíclico, bicíclico o tricíclico. Los sistemas de anillos monocíclicos se ejemplifican mediante un grupo hidrocarburo cíclico saturado que contiene entre 3 y 8 átomos de carbono. Entre los ejemplos de sistemas de anillos monocíclicos se incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los sistemas de anillos bicíclicos se ejemplifican mediante un sistema de anillos monocíclico puenteado en el que dos átomos de carbono no contiguos del anillo monocíclico están unidos mediante un puente alquilenol de entre uno y tres átomos de carbono adicionales. Entre los ejemplos representativos de sistemas de anillos bicíclicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, biciclo[3.1.1]heptano, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[3.2.2]nonano, biciclo[3.3.1]nonano y biciclo[4.2.1]nonano. Los sistemas de anillos tricíclicos se ejemplifican mediante un sistema de anillos bicíclico en el que dos átomos de carbono no contiguos del anillo bicíclico están unidos mediante un enlace o un puente alquilenol de entre uno y tres átomos de carbono. Entre los ejemplos representativos de sistemas de anillos tricíclicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, triciclo[3.3.1.0<sup>sup</sup>.3,7]nonano y triciclo[3.3.1.1<sup>sup</sup>.3,7]decano (adamantano). El término «cicloalquilo» tal como se refiere a los compuestos de la presente exposición se refiere a cicloalquilo  $C_3$ , cicloalquilo  $C_4$ , cicloalquilo  $C_5$ , cicloalquilo  $C_6$ , cicloalquilo  $C_7$  o cicloalquilo  $C_8$ .

Los grupos cicloalquilo de la presente exposición pueden sustituirse con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilenol, alcoxi, alcocalquilo, alcocalcarbonilo, alcocalcarbonilalquilo, alquilo, alquilcarbonilo,

alquilcarbonilalquilo, alquilcarboniloxi, alquilsulfonilo, alquiltio, alquinilo, carboxi, carboxialquilo, ciano, cianoalquilo, formilo, halógeno, haloalquilo, heterociclo, heterocicloalquilo, hidroxí, hidroxialquilo, mercapto, nitro, oxo, fenilo y  $R_{ss}R_{tt}N$ - en el que  $R_{ss}$  y  $R_{tt}$  se definen en la presente memoria.

5 El término «cicloalquilalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo cicloalquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de grupos cicloalquilalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, ciclopentilpropilo y ciclohexil-2-metilbutilo.

10 El término «cicloalquenilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un sistema de anillos monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene 1 o 2 enlaces dobles pero que no es aromático. Los sistemas de anillos monocíclicos se ejemplifican mediante un grupo hidrocarburo cíclico insaturado que contiene entre 3 y 8 átomos de carbono. Entre los ejemplos de sistemas de anillos monocíclicos se incluyen ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo y ciclooctenilo. Los sistemas de anillos bicíclicos se ejemplifican mediante un sistema de anillos monocíclico puentado en el que dos átomos de carbono no contiguos del anillo monocíclico están unidos mediante un puente alquilenilo de entre uno y tres átomos de carbono adicionales.

15 Los grupos cicloalquenilo de la presente exposición pueden sustituirse con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquenilo, alcoxi, alcoxialquilo, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilcarbonilalquilo, alquilcarboniloxi, alquilsulfonilo, alquiltio, alquinilo, ciano, cianoalquilo, formilo, halógeno, haloalquilo, heterociclo, heterocicloalquilo, hidroxí, hidroxialquilo, mercapto, nitro, fenilo y  $R_{ss}R_{tt}N$ - en el que  $R_{ss}$  y  $R_{tt}$  se definen en la presente memoria.

20 El término «cicloalquenilalcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo cicloalquenilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

25 El término «dihidroxialcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a dos grupos hidroxí, tal como se definen en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de alquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2-dihidroxietoxi, 2,3-dihidroxipropoxi, 3,4-dihidroxibutoxi y similares.

El término «formilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo  $-C(O)H$ .

35 El término «halo» o «halógeno», tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a  $-Cl$ ,  $-Br$ ,  $-I$  o  $-F$ .

El término «haloalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a por lo menos un halógeno, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de haloalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, clorometilo, 2-fluoroetilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo y 2-cloro-3-fluoropentilo.

40 El término «heteroarilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un anillo heteroarilo monocíclico o un anillo heteroarilo bicíclico. El anillo heteroarilo monocíclico es un anillo de 5 o 6 elementos. El anillo de 5 elementos presenta dos dobles enlaces y contiene uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S. El anillo de 6 elementos presenta tres dobles enlaces y contiene uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S. El anillo heteroarilo bicíclico consiste en el anillo heteroarilo de 5 o 6 elementos fusionado con un grupo arilo distal o el anillo heteroarilo de 5 o 6 elementos fusionado con un grupo cicloalquilo distal o el anillo heteroarilo de 5 o 6 elementos fusionado con un grupo cicloalquenilo distal o el anillo heteroarilo de 5 o 6 elementos fusionado con un anillo heterociclo de 5 o 6 elementos distal. Los heteroátomos de nitrógeno contenidos dentro del heteroarilo pueden oxidarse opcionalmente con el N-óxido o protegerse opcionalmente con un grupo protector de nitrógeno conocido por el experto en la materia. El heteroarilo se conecta a la fracción molecular parental mediante cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido dentro del heteroarilo. Entre los ejemplos representativos de heteroarilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, benzotienilo, benzoxadiazolilo, cinnolinilo, 5,6-dihidroisoquinolinilo, 7,8-dihidroisoquinolinilo, 5,6-dihidroquinolinilo, 7,8-dihidroquinolinilo, furopiridinilo, furilo, imidazolilo, indazolilo, indolilo, isoxazolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, oxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, pirazolilo, pirrolilo, N-óxido de piridinilo, quinolinilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolinilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienopiridinilo, tienilo, triazolilo y triazinilo.

Según la presente exposición, los heteroarilos pueden sustituirse con 0, 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados independientemente. Los sustituyentes pueden seleccionarse de los grupos descritos bajo el término «arilo».

65 El término «heteroarilalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo heteroarilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heteroaril-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heteroarilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «heteroaril-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heteroaril-NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heteroarilalquil-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heteroarilalquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «heteroarilalquil-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heteroarilalquil-NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterociclo» o «heterocíclico», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un anillo heterocíclico monocíclico o a un anillo heterocíclico bicíclico o a un anillo heterocíclico tricíclico. El anillo heterocíclico monocíclico consiste en un anillo de 3, 4, 5, 6, 7 o 8 elementos que contiene por lo menos un heteroátomo seleccionado independientemente de entre oxígeno, nitrógeno y azufre. El anillo de 3 o 4 elementos contiene 1 heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de 5 elementos contiene cero o un doble enlace y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de 6 o 7 elementos contiene cero, uno o dos dobles enlaces y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de 8 elementos contiene cero, uno, dos o tres dobles enlaces y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. Entre los ejemplos representativos del anillo heterocíclico monocíclico se incluyen, aunque sin limitarse a ellos azetidino, azepano, aziridino, diazepano, 1,3-dioxano, 1,3-dioxolano, 1,3-ditiano, 1,3-ditiano, imidazolino, imidazolidino, isotiazolino, isotiazolidino, isoxazolino, isoxazolidino, morfolino, oxadiazolino, oxadiazolidino, oxazolino, oxazolidino, piperazino, piperidino, pirano, pirazolino, pirazolidino, pirrolino, pirrolidino, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotieno, tiadiazolino, tiadiazolidino, tiazolino, tiazolidino, tiomorfolino, 1,1-dioxidiotiomorfolino (tiomorfolina sulfona), tiopirano y tritiano. El anillo heterocíclico bicíclico consiste en el anillo heterocíclico monocíclico fusionado con un anillo arilo distal o el anillo heterocíclico monocíclico fusionado con un anillo cicloalquilo distal o el anillo heterocíclico monocíclico fusionado con un anillo cicloalqueno distal o el anillo heterocíclico monocíclico fusionado con un anillo heteroarilo monocíclico distal, o el anillo heterocíclico monocíclico fusionado con un anillo heteroarilo monocíclico distal. Entre los ejemplos representativos del anillo heterocíclico bicíclico se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 1,3-benzodioxolilo, 1,3-benzoditioilo, 2,3-dihidro-1,4-benzodioxinilo, 2,3-dihidro-1-benzofuranilo, 2,3-dihidro-1-benzotieno, 2,3-dihidro-1H-indolilo y 1,2,3,4-tetrahidroquinolilo. El anillo heterocíclico tricíclico consiste en el anillo heterocíclico bicíclico fusionado con un grupo fenilo o el anillo heterocíclico bicíclico fusionado con un grupo cicloalquilo o el anillo heterocíclico bicíclico fusionado con un grupo cicloalqueno o el anillo heterocíclico bicíclico fusionado con otro anillo heterocíclico monocíclico. Entre los ejemplos representativos de anillos heterocíclicos tricíclicos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2,3,4,4a,9,9a-hexahidro-1H-carbazolo, 5a,6,7,8,9,9a-hexahidrodibenzo[b,d]furanilo y 5a,6,7,8,9,9a-hexahidrodibenzo[b,d]tienilo.

Según la presente exposición, los heterociclos de la presente exposición pueden sustituirse con 0 a 8, más preferentemente 0 a 4, es decir, 0, 1, 2, 3 o 4 sustituyentes que se seleccionaron independientemente. Los sustituyentes pueden seleccionarse de los grupos descritos bajo el término «arilo».

El término «heterocicloalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de heterocicloalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, piridin-3-ilmetilo y 2-pirimidin-2-ilpropilo y similares.

El término «heterocicloalquil-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterocicloalquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterocicloalquil-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterocicloalquil-NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterociclo-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterociclo-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo-

NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterocicloalquenilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterocicloalcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

El término «heterociclocarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de heterociclocarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, piridín-4-iletanona y piridín-4-ilpropanona.

El término «heterociclooxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo oxi, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de heterociclooxi se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, piridín-2-ol, piridín-4-ol y tiofén-2-ol.

El término «heterocicloxicarbonilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterocicloxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de heterocicloxicarbonilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, piridín-4-ilcarboxilato y tiofén-2-ilcarboxilato.

El término «heterociclooxialquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un heterociclooxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquino, tal como se define en la presente memoria.

El término «hidroxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo -OH.

El término «hidroxialquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidroxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos de hidroxialquilo incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 3-hidroxibutilo y similares.

El término «hidroxialquil-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un hidroxialquilo, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria.

El término «hidroxialquil-NHC(O)-alquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un hidroxialquil-NHC(O)-, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «hidroxialquenilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidroxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquenilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «hidroxialquinilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidroxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alquino, tal como se define en la presente memoria.

El término «hidroxialcoxi», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidroxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos representativos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 2-hidroxietoxi, 2-hidroxipropoxi, 3-hidroxibutoxi y similares.

El término «hidroxicicloalquilo», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidroxi, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo cicloalquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «-NHC(O)-», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un átomo de nitrógeno no sustituido, tal como se define en la presente memoria, unido a la fracción molecular parental mediante un grupo carbonilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «trihaloalquilo» tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a tres átomos de halógeno, unidos a la fracción molecular parental mediante un grupo alquilo, tal como se define en la presente memoria.

El término «trihaloalcoxi» tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a tres átomos de halógeno, unidos a la fracción molecular parental mediante un grupo alcoxi, tal como se define en la presente memoria.

Los términos "alqueniltio", "alquiniltio", "cicloalquiltio", "cicloalquilalquiltio", "cicloalquenilalquiltio", "ariltio", "heterocicloalquiltio", "cianoalquiltio", "cianoalqueniltio", "hidroxialquiltio" y "dihidroxitio", tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a las fracciones alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilalquilo, arilo, heterocicloalquilo, cianoalquilo, cianoalquenilo, hidroxialquilo y dihidroxilo tal como se define en la presente memoria, que están unidas a la fracción molecular parental mediante un átomo de azufre.

El término «inhibe» se entiende que comprende la inhibición tanto parcial como completa.

Las expresiones «inhibidor HSF», «inhibidor de HSF» o la abreviatura «I<sub>HSF</sub>» se refieren a un compuesto de molécula pequeña que, entre otros, es capaz de inhibir la función prototípica del factor 1 de choque térmico, abreviadamente HSF1 (también conocido como factor de transcripción de choque térmico, o HSTF, por sus siglas en inglés), cuya función es mediar en la acumulación transitoria inducida por estrés (habitualmente inducido por calor) de transcritos (o productos proteicos) de sus genes diana, que son genes que están funcionalmente asociados a promotores inducibles por estrés, que habitualmente son promotores que comprenden una o más secuencias de HSE.

"I<sub>HSF</sub>" también se denomina en la presente memoria «compuesto», «compuesto de la exposición» o «compuesto activo». Resulta evidente a partir del contexto cuando los últimos términos pretenden referirse a I<sub>HSF</sub>. La secuencia de nucleótidos del ADNc *hsf1* humano y la secuencia de aminoácidos de HSF1 humano fueron informados por primera vez por Rabindran et al. (1991). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 6906-6910. Para el primer informe correspondiente de las secuencias de ADNc *hsf2* humano y de aminoácidos, ver Schuetz et al. (1991). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 6911-6915. Para el *hsf4* humano, ver Nakai et al. (1997) Mol. Cell. Biol. 17: 469-481. Ver también UniProtKB-Q00613, Q03933 y Q9ULV5.

Un «promotor» es una secuencia de nucleótidos que dirige la expresión transcripcional de un gen funcionalmente ligado. Un promotor puede ser constitutivamente activo de manera ubicua o de manera restringida a un tipo celular. Alternativamente, también puede ser inducible, es decir, volverse activo, o más activo, en respuesta a cierta estimulación. Los promotores del gen *hsp* inducibles por estrés son ejemplos de promotores inducibles.

La expresión «gen de choque térmico (gen *hsp*)» se entiende en la presente memoria como referido a un gen cuya actividad está potenciada cuando la célula eucariótica que contiene el gen se expone a una temperatura superior a su temperatura de crecimiento normal. Normalmente, dichos genes se activan cuando la temperatura a la que se expone normalmente la célula se eleva en 3-10 °C. Los genes de choque térmico comprenden genes de proteínas de choque térmico «clásicas», es decir, HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 y HSP20-30. También incluyen otros genes inducibles por calor, tales como los genes para MDR1, ubiquitina, FKBP52, hemoxidasa y otras proteínas. Los promotores de estos genes, los "promotores de choque térmico (promotores *hsp*)» contienen elementos de secuencia característicos denominados elementos de choque térmico (HSE, por sus siglas en inglés), que consisten en módulos de secuencia perfectos o imperfectos del tipo NGAAN o AGAAN, los cuales están organizados en orientaciones alternantes (Amin, J. et al. (1988) Mol. Cell. Biol. 8: 3761-3769; Xiao, H. y Lis, J.T. (1988) Science 239: 1139-1142; Fernandes, M. et al. (1994) Nucleic Acids Res. 22: 167-173). Estos elementos están altamente conservados en todas las células eucarióticas. Las secuencias de HSE son sitios de unión para factores de transcripción de choque térmico (HSF; revisión en Wu, C. (1995) Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 11, 441-469). El factor principalmente responsable de la activación de los genes *hsp* en las células de mamífero expuestas al calor o a un estrés proteotóxico es HSF1 (Baler, R. et al. (1993) Mol. Cell. Biol. 13: 2486-2496; McMillan, D.R. et al. (1998) J. Biol. Chem. 273: 7523-7528). Los promotores preferentes para el uso en la evaluación de la función de HSF1 son los promotores de los genes inducibles *hsp70*. Un promotor de *hsp* particularmente preferente es el promotor del gen *hsp70B* humano (Voellmy, R. et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 4949-4953).

El término «tratamiento» se refiere a cualquier procedimiento, acción, aplicación, terapia o similar, en la que un mamífero, en particular un ser humano, se somete a atención médica con el objeto de mejorar la afección del mamífero, directa o indirectamente.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión «sal farmacéuticamente aceptable» se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance del criterio médico razonable, resultan adecuadas para la utilización en contacto con los tejidos de seres humanos o animales mamíferos sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares excesivos, y acordes con una proporción de beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas de la técnica. Por ejemplo, Berge y colaboradores describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharm. Sci. 66: 1-19 (1977). Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos de la exposición, o por separado, haciendo reaccionar la función base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Entre los ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables se

incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 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 maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido lactobiónico o ácido malónico, o mediante la utilización de otros métodos utilizados en la técnica, tales como el intercambio iónico. Entre otras sales farmacéuticamente aceptables se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, las sales adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, sulfato de laurilo, 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 similares. Entre las sales de metal alcalino o alcalino-térreo representativas se incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Entre las sales farmacéuticamente aceptables adicionales se incluyen, en caso apropiado, cationes de amonio no tóxico, amonio cuaternario y amina formados utilizando contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato y sulfonato de arilo.

La expresión «profármacos farmacéuticamente aceptables» tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a aquellos profármacos de los compuestos de la presente exposición que resultan adecuados, dentro del alcance del criterio médico razonable, para la utilización en contacto con los tejidos de seres humanos y animales mamíferos sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares excesivos, y acordes con una proporción de beneficio/riesgo razonable y eficaces para su uso pretendido. El término «profármaco» tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un compuesto que es convertible in vivo por medios metabólicos (p. ej., mediante hidrólisis) en un compuesto de la exposición. Se conocen de la técnica diversas formas de profármaco, por ejemplo, tal como se comenta en Bundgaard, H. (ed.), *Design of Prodrugs*, Elsevier (1985); Widder, K.J. and Green, R. (eds.), *Meth. Enzymol.*, vol. 112, Academic Press (1985); Krogsgaard-Larsen, P. y Bundgaard, H. (eds.), "Design and Application of Prodrugs, Textbook of Drug Design and Development", capítulo 13, páginas 351-85 (1991); Nielson, N.M. y Bundgaard, H. (1988) *J. Pharm. Sci.* 77:285-98; Higuchi, T. y Stella, V. (eds.) *Pro-drugs as Novel Drug Delivery Systems*, American Chemical Society (1975); y Testa, B. y Mayer, J.M. "Hidrolisis In Drug And Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry And Enzymology," John Wiley and Sons, Ltd. (2003).

Tal como se utiliza en la presente memoria, «portador o excipiente farmacéuticamente aceptable» pretende incluir todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retardo de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica, tal como agua libre de pirógenos estéril. Los portadores adecuados se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA, 19th ed. 1995), una obra de referencia estándar en el campo. Son algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; ciclodextrinas, tales como alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras supositorias; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla 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 tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones tampón de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes desmoldantes, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden encontrarse presentes en la composición, de acuerdo con el criterio del formulador. También están comprendidos emulsionantes/surfactantes, tales como Cremophor EL y Solutol HS15, lecitina y fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina. También pueden utilizarse los liposomas. La utilización de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida de la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se encuentra contemplada la utilización del mismo en las composiciones. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones.

El término «sujeto», tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un sujeto mamífero. Preferentemente, el sujeto es un sujeto humano.

La expresión «molécula pequeña» se refiere a una molécula con un peso molecular inferior a aproximadamente 2.000 daltons, preferentemente inferior a aproximadamente 1.000 daltons, y lo más preferentemente, inferior a 500 daltons. Además de la limitación de tamaño anteriormente indicada, a fin de evitar cualquier posible duda, la expresión «molécula pequeña» tal como se utiliza en la presente memoria se definirá específicamente que excluye ácidos nucleicos o aptámeros de ácidos nucleicos.

La expresión «cantidad eficaz» de un inhibidor de HSF de la exposición se refiere a una cantidad del compuesto que, al administrarse una vez o múltiples veces durante el curso de un tratamiento, confiere un efecto terapéutico en el sujeto tratado, en una relación razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible mediante algún ensayo o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto

proporciona una indicación o siente un efecto). Una cantidad eficaz de un inhibidor de HSF de la exposición puede estar comprendida entre aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, preferentemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal. Las dosis eficaces también variarán dependiendo de la vía de administración, así como de la posibilidad de coutilización con otros agentes. Sin embargo, se entenderá que la utilización diaria total de los compuestos y composiciones de la presente exposición será decidida por el médico responsable dentro del alcance del criterio médico responsable. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo el trastorno bajo tratamiento y la gravedad del trastorno, la actividad del compuesto específico utilizado, la composición específica utilizada, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y dieta del paciente, el momento de la administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico utilizado, la duración del tratamiento, los fármacos utilizados en combinación o coincidentes con el compuesto específico utilizado y factores similares bien conocidos de la técnica médica. Se señala que, utilizada en el contexto de la profilaxis o la prevención, una «cantidad eficaz» de un compuesto de la exposición se refiere a una cantidad del compuesto que, al administrarla una vez o múltiples veces durante el curso de un tratamiento, confiere un efecto profiláctico deseado en el sujeto tratado.

#### *Inhibidores de HSF*

El HSF1 de mamífero está regulado a múltiples niveles. Zou, J. et al. (1998) Cell 94: 471-480; Guo, Y. et al. (2001) J. Biol. Chem. 276, 45791-45799; Guettouche, T. et al. (2005) BMC Biochemistry 6: 4; Voellmy, R. (2006) Handb. Exp. Pharmacol. (172): 43-68; Boyault et al. (2007) Genes Dev. 21: 2172-2181. En una célula de mamífero o humana no estresada, HSF1 está presente en forma de un heterocomplejo con HSP90 y otras cochaperonas y cofactores, incluyendo CHIP y HDAC6. En esta forma, HSF1 es incapaz de unirse y transactivar un promotor que contiene HSE. El HSF1 inactivo aparentemente está distribuido en toda la célula. Cuando la célula experimenta un estrés físico o químico, el heterocomplejo de HSF1 se desensambla parcial o completamente y HSF1 se homotrimeriza. El HSF1 homotrimérico es capaz de unirse a las secuencias de ADN de HSE. Además, el factor homotrimérico se concentra en el núcleo. Aunque la activación de la capacidad de unión a ADN aparentemente es una consecuencia directa de la trimerización del factor, la activación de la capacidad de potenciación de la transcripción del factor está controlada por factores adicionales. Dependiendo del nivel de estrés experimentado por la célula, el factor homotrimérico puede ser evitado mediante la formación de un complejo que contiene HSP90. A menor nivel de estrés, más probable es la inactivación del HSF1 trimérico mediante la formación de dicho complejo. La actividad de transactivación también resulta potenciada/reducida mediante modificación post-traducciona, principalmente fosforilación/desfosforilación y desacetilación/acetilación. Guettouche, T. et al. (2005); Westerheide, S.D. et al. (2009) Science 323: 1063-1066. HSF1 también resulta estabilizado por la acetilación en residuos de lisina que no son cruciales para la actividad del factor. Raychaudhuri, S. et al. (2014) Cell 156: 975-985. Varias sustancias farmacológicas utilizadas en terapia humana causan la activación de HSF1, resultando en la inducción de la expresión de las HSP y en la generación de tolerancia (y la inhibición de los mecanismos apoptóticos). Son ejemplos bien conocidos de sustancias farmacológicas que causan la activación de HSF1, los inhibidores de HSP90, los inhibidores de la función del proteasoma y los inhibidores de HDAC6. Dicha inducción de la expresión de HSP aparentemente resulta en una eficacia subóptima de los fármacos. Bagatell, R. et al. (2000) Clin. Cancer Res. 6: 3312-3318.

Los análisis de estructura-función de HSF1 de mamífero han localizado el dominio de unión a ADN de HSE en el extremo N-terminal del polipéptido HSF1. Más en dirección C-terminal se encuentran las repeticiones hidrofóbicas 4-3 (o cremalleras de leucinas 4-3) HR-A y HR-B que desempeñan papeles cruciales en la trimerización, así como en la regulación de la trimerización del factor. Después de dichas repeticiones se encuentra una región conocida como «dominio regulador» que modula la actividad transcripcional del factor. Dicho dominio contiene un sitio de unión para el complejo de HSP90, así como por lo menos dos sitios para activar la fosforilación. En dirección C-terminal a dicha región se encuentra otra repetición hidrofóbica 4-3, HR-C, que desempeña una función crucial en el mantenimiento de HSF1 (inactivado) en un estado no homotrimérico. Hacia el extremo C-terminal del polipéptido HSF1 se localizan dos dominios de activación transcripcional. Voellmy, R. (2006) Handb. Exp. Pharmacol. 172: 43-68. HSF1 posee una naturaleza modular. Al sustituir el dominio de unión a ADN del HSF1 humano por un dominio de unión a ADN de la proteína bacteriana LexA, el factor quimérico resultante LexA<sub>87</sub>-hHSF1<sub>79</sub> era no homotrimérico e inactivo en ausencia de calor o estrés, aunque podía inducirse con calor u otro estrés para homotrimerizar así como transactivar un gen informador bajo el control de un promotor sensible a LexA. Zuo et al. (1994) Mol. Cell. Biol. 14: 7557-7568; Zuo et al. (1995) Mol. Cell. Biol. 15: 4319-4330.

La estructura completa de la molécula de HSF1 no se encontraba disponible al iniciar el trabajo dado a conocer en la presente memoria. Sin embargo, en ese momento once estructuras cristalinas del dominio de unión a ADN de HSF, 9 de levaduras y 2 de *Drosophila*, se habían depositado en el banco de datos de proteínas Brookhaven. (Las estructuras de los dominios de unión a ADN de HSF1 y HSF2 humanos solo han estado disponibles muy recientemente). Basándose en las primeras estructuras, pudo generarse un modelo comparativo de calidad adecuadamente alta del dominio de unión a ADN del HSF1 humano. Este modelo predecía cuatro posibles cavidades de unión (cavidades A a D). Se definieron nueve farmacóforos de 3 puntos apropiados. Utilizando dichos farmacóforos, se buscó en una biblioteca propietaria (Leadbuilder NICE) de aproximadamente 300.000 moléculas de tipo farmacológico disponibles comercialmente, y se ensambló una sub-biblioteca seleccionada de aproximadamente 2.000 compuestos.

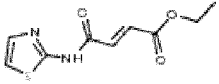
Para el cribado de dicha sub-biblioteca, se ha desarrollado un ensayo celular. Los presentes inventores optaron por un ensayo celular debido a que un ensayo sin células tendría que haber sido un ensayo de unión a ADN. Dicho ensayo estaría limitado a la identificación de moléculas capaces de interferir con la función de unión al ADN de HSF1. Se consideró que ello era un enfoque excesivamente restringido, ya que tres de las cuatro cavidades identificadas en el dominio de unión a ADN de HSF1 no se localizan en proximidad a la región de interacción del ADN. Se consideró probable que un ensayo celular convencional, en el que se sometería a ensayo un gen sensible a HSF1, sería sobreinclusivo. Se identificarían como aciertos los compuestos que inhibiesen cualquier factor participante en la activación de HSF1 o que impidiese la desactivación de HSF1. Entre dichos factores se incluyen proteína quinasas, activadores de proteína fosfatasa, factores que afectan a la estabilidad del ARNm de HSF1, HSP90, HDAC6, etc. Para desarrollar un ensayo celular más discriminante, se aprovechó la naturaleza modular de HSF1. Tal como se ha comentado anteriormente, la sustitución del dominio de unión a ADN de HSF1 por un dominio de unión a ADN no relacionado (LexA bacteriano) resultó en un factor de transcripción quimérico cuya actividad estaba regulada como HSF1 de tipo salvaje pero que se une a un promotor diana diferente. El ensayo celular desarrollado (ver posteriormente para conocer el formato particular utilizado) comparó la transactivación por HSF1 de tipo salvaje y por HSF1 quimérico en células expuestas a un tratamiento térmico activador de HSF1 en la presencia de un compuesto de la sub-biblioteca. Se identificó un compuesto como acierto si inhibía la actividad de HSF1 de tipo salvaje pero no de HSF1 quimérico.

El ensayo celular utilizó la línea célula Z74, derivada de HeLa, que contiene establemente un gen para el factor de transcripción quimérico LexA-HSF1 (humano) bajo el control de un promotor temprano del CMV, un gen de luciferasa de luciérnaga (*fluc*) controlado por un promotor sensible a este último factor de transcripción quimérico y un gen de luciferasa de *Renilla* (*rluc*) funcionalmente asociado a un promotor *hsp70b* y, por lo tanto, controlado por HSF1 endógeno (fig. 1A). Tal como se muestra en las figs. 1B y C, los genes informadores respondieron de manera similar a la dosis térmica, es decir, su activación dependía tanto de la duración de la exposición al calor como de la temperatura de la exposición. Estos datos demuestran que los factores de transcripción LexA-HSF1 y HSF1 de tipo salvaje (endógeno) están regulados por estrés de manera similar en la línea celular Z74. El agotamiento de HSF1 (y de LexA-HSF1) por ARNip (ARN interfiriente pequeño) corroboró la idea de que dicha regulación por estrés está mediada por HSF1 (y por LexA-HSF1). Por lo tanto, la línea Z74 era adecuada para la utilización en un ensayo de cribado destinado a identificar moléculas que inhiben la actividad de HSF1 inducido por calor mediante la interacción con el dominio de unión a ADN del factor de transcripción.

Los compuestos de la sub-biblioteca seleccionada anteriormente mencionada se cribaron en la línea celular Z74 a las concentraciones de 12,5 y 25  $\mu$ M. Habitualmente se expusieron cultivos de Z74 en placas de 96 pocillos a compuesto o vehículo durante 2 h, se trataron térmicamente a 43,0 °C durante 30 min y se incubaron adicionalmente durante 6 h a 37 °C para permitir la acumulación de las luciferasas. Se determinaron las actividades de RLuc y FLuc, normalmente utilizando el sistema de ensayo de luciferasa Dual-Glo<sup>®</sup> (Promega Corp., Madison, WI) y leyendo la emisión de luz de luciferasa en un luminómetro Wallac Microbeta Trilux-1450 (Perkin-Elmer, Waltham, MA). I<sub>HSF</sub> 001 fue uno de los dos compuestos de biblioteca que inhibió la expresión de RLuc pero no la expresión de FLuc en células Z74 tratadas térmicamente (Tabla 1; fig.2A). Por lo tanto, I<sub>HSF</sub> 001 es un inhibidor de la función de HSF1 que actúa específicamente a través del dominio de unión a ADN de HSF1. I<sub>HSF</sub> 001 cumple los criterios farmacofóricos de un ligante de la cavidad A. Un experimento de corroboración utilizó una línea celular que contenía un gen *fluc* controlador por el promotor *hsp70b*. Se encontró que I<sub>HSF</sub> 001 inhibía la expresión de FLuc en esta línea (datos no mostrados). I<sub>HSF</sub> 001 es 4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-etil. El compuesto puede obtenerse de proveedores comerciales (p. ej., AKE-PB-90340538, Akos).

Para determinar las relaciones de estructura-actividad, así como para mejorar la actividad inhibidora de I<sub>HSF</sub> 001, se sintetizó y sometió a ensayo una serie de compuestos relacionados para la actividad utilizando el ensayo celular anteriormente descrito. La estructura de algunos de dichos compuestos y sus actividades de inhibición se presentan en la Tabla 2. Los compuestos se prepararon a partir de materiales de partida conocidos utilizando métodos químicos conocidos por el experto en la materia y descritos en mayor detalle en el apartado de ejemplos. El compuesto I<sub>HSF</sub> más potente fue el compuesto 115, que presentaba actividad sustancial en el rango nanomolar en el ensayo de cribado basado en Z74 (Tabla 2, fig. 2B).

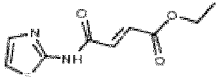
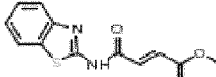
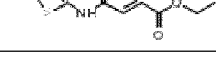
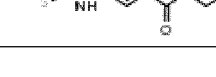
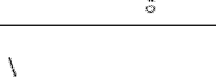
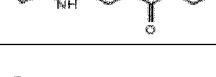
Tabla 1: Inhibición de la actividad de HSF1 en células Z74 (I<sub>HSF</sub> 001 sometido a ensayo a una concentración de 25  $\mu$ M)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Experimento n.º | Inhibición de la actividad de HSF1 [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de LexA-HSFh [FLuc] (%) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 001              |  | 1               | 66                                            | 3                                                  |
|                  |                                                                                     | 2               | 69                                            | 0                                                  |
|                  |                                                                                     | 3               | 69                                            | 0                                                  |
|                  |                                                                                     | 4               | 67                                            | 0                                                  |
|                  |                                                                                     | 5               | 68                                            | 0                                                  |

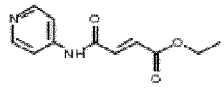
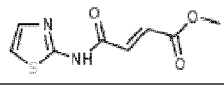
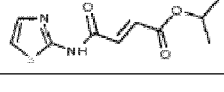
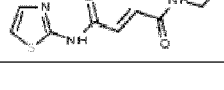
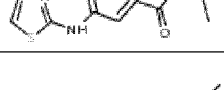
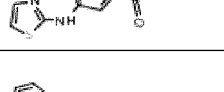
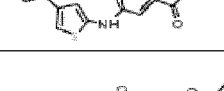
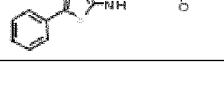
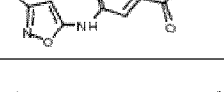
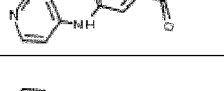
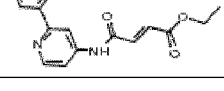
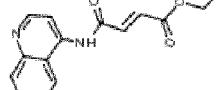
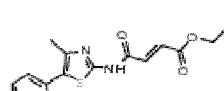
(continuación)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura | Experimento n.º | Inhibición de la actividad de HSF1 [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de LexA-HSFh [FLuc] (%) |
|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|                  |            | 6               | 63                                            | 0                                                  |
|                  |            | 7               | 56                                            | 0                                                  |
|                  |            | 8               | 51                                            | 0                                                  |
|                  |            | 9               | 45                                            | 15                                                 |

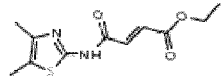
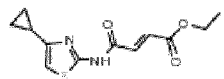
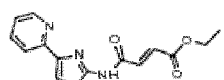
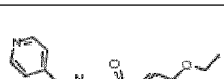
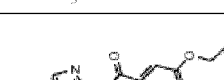
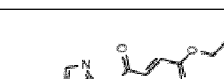
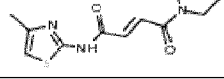
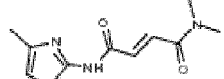
Tabla 2: Inhibición de la actividad de HSF1 en células Z74

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 µM [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 µM [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> (µM) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 001              |    | 64 ± 6                                                                   | 37 ± 9                                                                     | 17,8 ± 2,6            |
| 010              |    | 56                                                                       | 56                                                                         | ND                    |
| 011              |   | 83                                                                       | 69                                                                         | 7,0                   |
| 012              |  | 86                                                                       | 68                                                                         | 11,3                  |
| 013              |  | 50                                                                       | 34                                                                         | 25,0                  |
| 014              |  | 89                                                                       | 60                                                                         | 7,1                   |
| 015              |  | 20                                                                       | 0                                                                          | ND                    |
| 016              |  | 25                                                                       | 0                                                                          | ND                    |
| 017              |  | 37                                                                       | 32                                                                         | ND                    |
| 018              |  | 53                                                                       | 20                                                                         | 23,6                  |

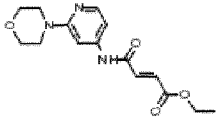
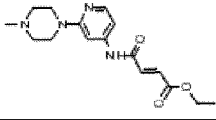
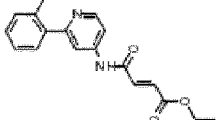
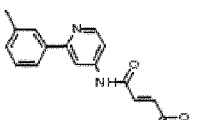
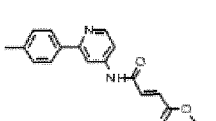
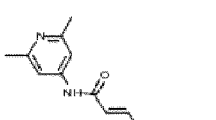
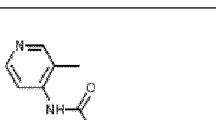
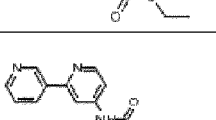
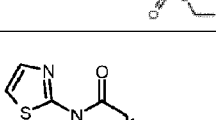
(continuación)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 µM [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 µM [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> (µM) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 020              |    | 53                                                                       | 30                                                                         | 23,5                  |
| 027              |    | 42                                                                       | 18                                                                         | >25                   |
| 028              |    | 41                                                                       | 13                                                                         | >25                   |
| 030              |    | 18                                                                       | 5                                                                          | >25                   |
| 031              |   | 24                                                                       | 15                                                                         | ND                    |
| 042              |  | 52                                                                       | 1                                                                          | ND                    |
| 043              |  | 5                                                                        | 32                                                                         | ND                    |
| 045              |  | 53                                                                       | 34                                                                         | ND                    |
| 046              |  | 70                                                                       | 33                                                                         | ND                    |
| 048              |  | 67                                                                       | 37                                                                         | ND                    |
| 049              |  | 85                                                                       | 53                                                                         | ND                    |
| 050              |  | 61                                                                       | 40                                                                         | ND                    |
| 051              |  | 92                                                                       | 72                                                                         | 9,6                   |

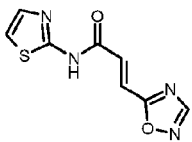
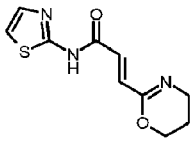
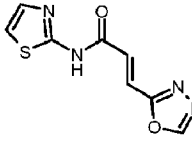
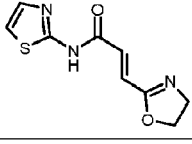
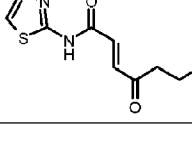
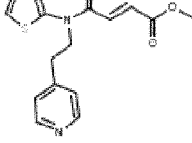
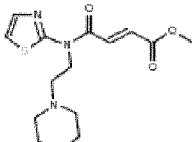
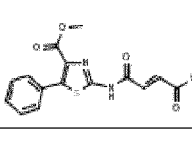
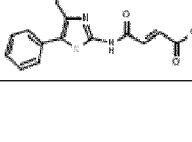
(continuación)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 $\mu$ M [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 $\mu$ M [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 052              |    | 71                                                                            | 57                                                                              | 7,4                         |
| 053              |    | 29                                                                            | 15                                                                              | >25                         |
| 054              |    | 69                                                                            | 22                                                                              | 20,2                        |
| 055              |    | 74                                                                            | 27                                                                              | 18,7                        |
| 056              |   | 61                                                                            | 35                                                                              | 19,8                        |
| 057              |  | 65                                                                            | 40                                                                              | ND                          |
| 058              |  | 97 $\pm$ 2                                                                    | 79 $\pm$ 7                                                                      | 4,8 $\pm$ 0,4               |
| 059              |  | 72                                                                            | 45                                                                              | 14,7                        |
| 060              |  | 19                                                                            | 16                                                                              | ND                          |
| 061              |  | 18                                                                            | 12                                                                              | ND                          |
| 070              |  | 90 $\pm$ 8                                                                    | 72 $\pm$ 7                                                                      | 5,7 $\pm$ 0,8               |
| 076              |  | 66                                                                            | 56                                                                              | ND                          |

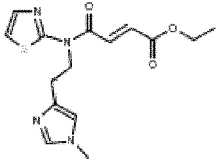
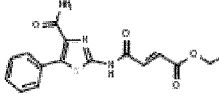
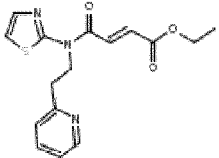
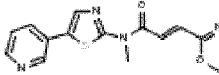
(continuación)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 µM [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 µM [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> (µM) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 077              |    | 67                                                                       | 42                                                                         | ND                    |
| 078              |    | 54                                                                       | 32                                                                         | ND                    |
| 079              |    | 79                                                                       | 42                                                                         | ND                    |
| 080              |   | 71                                                                       | 55                                                                         | ND                    |
| 081              |  | 65                                                                       | 42                                                                         | ND                    |
| 082              |  | 91                                                                       | 58                                                                         | ND                    |
| 083              |  | 34                                                                       | 24                                                                         | ND                    |
| 086              |  | 78                                                                       | 47                                                                         | ND                    |
| 088              |  | 31                                                                       | 25                                                                         | >25                   |

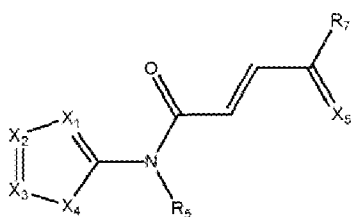
(continuación)

| I <sub>HSF</sub> | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 $\mu$ M [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 $\mu$ M [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 089              |    | 61                                                                            | 41                                                                              | 17,9                        |
| 090              |    | 98 $\pm$ 2                                                                    | 78 $\pm$ 19                                                                     | 5,4 $\pm$ 0,4               |
| 091              |   | 27                                                                            | 22                                                                              | >25                         |
| 092              |  | 99 $\pm$ 1                                                                    | 90 $\pm$ 6                                                                      | 4,7 $\pm$ 0,2               |
| 095              |  | 44                                                                            | 6                                                                               | >25                         |
| 099              |  | 95                                                                            | 17                                                                              | 18,0                        |
| 101              |  | 48                                                                            | -30*                                                                            | >25                         |
| 105              |  | 96                                                                            | 69                                                                              | 10,8                        |
| 107              |  | 92                                                                            | 62                                                                              | 10,6                        |

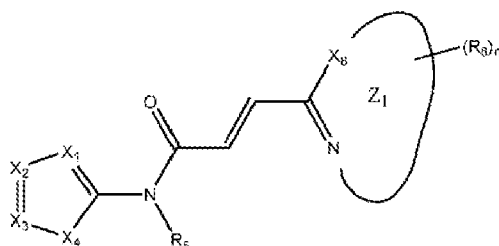
(continuación)

| I <sub>HSF</sub>                                                 | Estructura                                                                          | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 25 $\mu$ M [RLuc] (%) | Inhibición de la actividad de HSF1 con I <sub>HSF</sub> 12,5 $\mu$ M [RLuc] (%) | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) |
|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 108                                                              |    | 89                                                                            | -6*                                                                             | 19,6                        |
| 109                                                              |    | 88                                                                            | 53                                                                              | 11,2                        |
| 112                                                              |   | 26                                                                            | 13                                                                              | >25                         |
| 115                                                              |  | 100 $\pm$                                                                     | 99 $\pm$ 1                                                                      | 0,7 $\pm$ 0,1               |
| *El compuesto potenció la actividad de rLuc. ND: no determinado. |                                                                                     |                                                                               |                                                                                 |                             |

Basándose en los resultados experimentales obtenidos con los compuestos mostrados en la Tabla 2, así como en una multitud de otros compuestos relacionados que se produjeron y sometieron a ensayo para su actividad inhibidora, puede definirse un inhibidor de HSF como un compuesto de fórmula I o II, a continuación:



Fórmula I

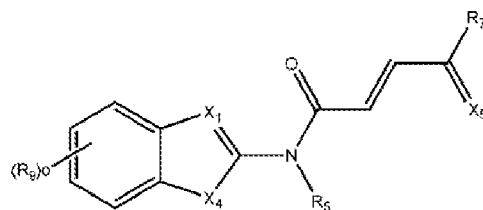


Fórmula II

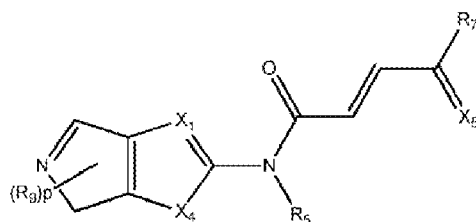
en las que:

n es 0-8, preferentemente 0-4 (0, 1, 2, 3 o 4); o es 0, 1, 2, 3 o 4; p es 0, 1 o 2;  
X<sub>1</sub> es N o C(-R<sub>1</sub>),

$X_2$  es C(- $R_2$ ), N, o O o S (doble enlace entre  $X_3$  y  $X_4$  en lugar de entre  $X_2$  y  $X_3$ ),  
 $X_3$  es C(- $R_3$ ) o N,  
 $X_4$  es S o O, o C(- $R_4$ ) o N si  $X_2$  es O o S (doble enlace entre  $X_3$  y  $X_4$  en lugar de entre  $X_2$  y  $X_3$ ),  
 $X_5$  es O, S o N(- $R_6$ ),  
 $X_6$  es O, S, N, NH, alquilo ( $C_1$ - $C_4$ )-N, CH o C(alquilo  $C_1$ - $C_4$ ),  $CH_2$  o CH(alquilo  $C_1$ - $C_4$ ) o C(alquilo  $C_1$ - $C_4$ )<sub>2</sub>,  
 $R_1$  es H, halo, alquilo  $C_1$ - $C_4$ , haloalquilo  $C_1$ - $C_4$ , siendo preferente H,  
 $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_5$  y  $R_8$  se seleccionan independientemente, y cada uno puede ser H o cualquier sustituyente, con la  
condición de que su presencia sea compatible con la naturaleza de molécula pequeña del inhibidor y,  
estadísticamente, no más de 10 % de cualquier grupo ionizable que pueda contener esté ionizado a pH neutro  
( $R_8$  no siendo un sustituyente de  $X_6$ ),  
en donde  $R_2$  y  $R_3$  pueden formar un anillo o heterociclo aromático o no aromático de 5 a 8 elementos sustituidos o  
no sustituidos tal como se ejemplifica mediante las fórmulas IA y IB, a continuación:



Fórmula IA



Fórmula IB

$R_4$  es H, halo, alquilo  $C_1$ - $C_4$ , haloalquilo  $C_1$ - $C_4$ , siendo preferente H,  
 $R_6$  es H o se selecciona de entre halógeno, OH, SH,  $NH_2$  y  $Z_2$ , en donde  $Z_2$  es un residuo que comprende entre 1  
y 4 átomos de carbono;  $R_7$  es -OH, -SH, - $NH_2$ , -O- $Z_2$ , -S- $Z_2$ , -NH- $Z_2$  o -N-( $Z_2$ )<sub>2</sub>,  
 $R_9$  se selecciona independientemente de entre (H), alquenilo, alcoxi, alcoxialquilo, alcoxialquinoilo, alcoxicarbonilo,  
alcoxicarbonilalquilo, alcoxi-NH.dbd.C(alquilo)-, alquilo, alquilcarbonilo, alquilcarbonilalquilo, alquilcarboniloxi,  
alquilsulfonilo, alquiltio, alquinilo, arilo, arilalcoxi, arilalquilo, arilcarbonilo, ariloxi, ciano, cianoalquilo, cicloalquilo,  
cicloalquilalquilo, formilo, halógeno, haloalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, hidroxialquinoilo, mercapto, nitro, oxo,  
fenilo y  $R_{ss}R_{tt}N$ ,  $R_{ss}R_{tt}N$  carbonilo,  $R_{ss}R_{tt}N$  alquilo, en donde  $R_{ss}$  y  $R_{tt}$  se seleccionan, cada uno  
independientemente, del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo y alquil-SO<sub>2</sub>-,  
y  $Z_1$  es un heterociclo de 5 a 8 elementos.

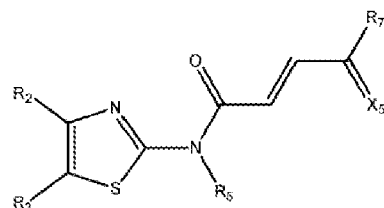
En realizaciones alternativas, los sustituyentes  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_5$  en la fórmula I o  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_5$  y  $R_8$  en la fórmula II (o en  
cualquiera de las fórmulas III-XII en la que se indica uno o más de dichos sustituyentes) se seleccionan  
independientemente del grupo que consiste en (H), hidroxi, formilo, alquilcarbonil, alcoxi, alquiltio, alquiltioalquilo,  
alcoxialcoxi, alcoxicarbonilo, alcoxialquenoilo, alcoxialquinoilo, alcoxicarbonil-alcoxi, alquilo, alquenoilo, alquenoiloxi,  
alquenoiltio, alquinilo, alquinoiltio, cicloalquilo, cicloalquiltio, cicloalquilalcoxi, cicloalquilalquiltio, cicloalquenoilalcoxi,  
cicloalquenoilalquiltio, alquilSO<sub>2</sub>-, acilo, arilalquilo, ariloxi, ariltio, arilalquenoilo, arilalquinoilo, arilcarbonilo,  
arilalcoxicarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenoilo, heterocicloalcoxi,  
heterocicloalquiltio, heterocicloalquinoilo, heterocicloalcarbonilo, heterocicloalcoxicarbonilo, ciano, cianoalquilo, cianoalcoxi,  
cianoalquiltio, cianoalquinoilo, cianoalquenoilo, cianoalquenoilalcoxi, cianoalquenoilalquiltio, halógeno, haloalquilo,  
trihaloalquilo, trihaloalcoxi, hidroxialquilo, hidroxialquenoilo, hidroxialquinoilo, hidroxialquiltio, hidroxialquiltio,  
dihidroxialcoxi, dihidroxialquiltio, nitro,  $R_f$ -O-,  $R_f$ -S-, HO-N=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0,1 o 2</sub>-,  $R_aR_bN$ -,  $R_aR_bN$ -alquilo-,  $R_aR_bN$ -alquenoilo-,  
 $R_aR_bN$ -alquinoilo-,  $R_aR_bNC$ (O)-,  $R_aR_bNC$ (O)-alquinoilo-,  $R_aR_bNC$ (O)-alcoxi-,  $R_aR_bNSO_2$ -alcoxi- y  $R_w$ -O-N=CH-, en  
donde alquilo puede estar opcionalmente sustituido con O= y  $R_f$ -N=;  $R_a$  y  $R_b$  se seleccionan, cada uno individualmente,  
del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquenoilcarbonilo, alquilsulfonilo, alquilcarbonilo,  
alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alcoxicarbonilalquilcarbonilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenoilo,  
arilcarbonilo, ariloxiacarbonilo, arilalquiloalcoxicarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenoilo,  
heterocicloalcarbonilo, heterocicloalquilcarbonilo, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalquilcarbonilo, haloalquilcarbonilo,  
heterocicloalcoxicarbonil-hidroxialquilo y hidroxialquilcarbonilo;  $R_t$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno,  
alquilo y HO-;  $R_f$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alcoxialquilo,  
alquiltioalquilo y haloalquilo;  $R_w$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-  
alquilo, alquilo, alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-alquilo, hidroxialquil-NHC(O)-alquilo, heterocicloalquil-NHC(O)-alquilo,  
heterociclo-NHC(O)-alquilo y heteroarilalquil-NHC(O)-alquilo.

En realizaciones alternativas adicionales, los sustituyentes R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>5</sub> en la fórmula I o R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>8</sub> en la fórmula II (o en cualquiera de las fórmulas III-XII en la que se indica uno o más de dichos sustituyentes) se seleccionan independientemente del grupo que consiste en (H), hidroxilo, formilo, alquilcarbonilo, alcoxi, alquiltio, alquiltioalquilo, alcoxialcoxi, alcoxicarbonilo, alcoxialquenilo, alcoxialquinilo, alcoxicarbonilo- alcoxi, alquilo, alquenilo, alquenilo, alquinoxilo, alquinoxilo, cicloalquilo, cicloalquilalcoxi, cicloalquenalcoxi, alquil-SO<sub>2</sub>-, acrílico, arilalquilo, ariloxi, arilalquenilo, arilalquinilo, arilcarbonilo, arilalcxicarbonilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterocicloalcoxi, heterocicloalquinilo, heterociclocarbonilo, heterociclooxycarbonilo, ciano, cianoalquilo, cianoalcoxi, cianoalquinilo, cianoalquenilo, cianoalquenalcoxi, halógeno, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalcoxi, hidroxialquilo, hidroxialquenilo, hidroxialquinilo, hidroxialcoxi, dihidroxialcoxi, nitrilo, R<sub>f</sub>-O-, HO-N=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>0,1</sub> o <sub>2</sub>-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquenilo, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>N-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-alquinilo-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NC(O)-alcoxi-, R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>NSO<sub>2</sub>-alcoxi- y R<sub>w</sub>-O-N=CH-, en donde alquilo puede estar sustituido opcionalmente con O= y R<sub>f</sub>-N=; R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> se seleccionan, cada uno individualmente, del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, carbonilo, alquenilo, alquenalcarbonilo, alquilsulfonilo, alquilcarbonilo, alcxicarbonilo, alcxicarbonilalquilo, alcxicarbonilalquilcarbonilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilcarbonilo, ariloxycarbonilo, arilalquiloalcoxi, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, heterociclocarbonilo, heterocicloalquilcarbonilo, haloalquilo, trihaloalquilo, trihaloalquilcarbonilo, haloalquilcarbonilo, heterociclooxycarbonil-hidroxialquilo e hidroxialquilcarbonilo; R<sub>t</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo y HO-; R<sub>f</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alcoxialquilo, alquiltioalquilo y haloalquilo; R<sub>w</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilcarbonil-NH-alquil-NHC(O)-alquilo, alquilo, alquil(alquil)N-alquil-NHC(O)-alquilo, hidroxialquil-NHC(O)-alquilo, heterocicloalquil-NHC(O)-alquilo, heterociclo-NHC(O)-alquilo, y heteroarilalquil-NHC(O)-alquilo.

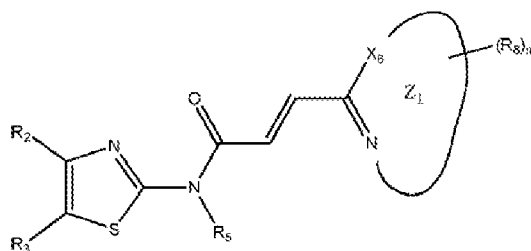
Preferentemente (no aplicable a R<sub>10</sub>-R<sub>13</sub>), R<sub>5</sub> se selecciona de H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, heterociclo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> aromático y heterociclo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> no aromático. Entre los sustituyentes R<sub>5</sub> más preferentes está CH<sub>3</sub>. Preferentemente, R<sub>8</sub> se selecciona de H, halógeno, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, OCH<sub>3</sub>, OH, NH<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, y -U-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-, en donde U es CH<sub>2</sub>, O, S, NH o NCH<sub>3</sub>. R<sub>8</sub> también puede formar un ciclo o heterociclo aromático o no aromático de 5 o 6 elementos, que incorpore dos grupos metileno contiguos de Z<sub>1</sub>. Lo más preferentemente, R<sub>8</sub> es H, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

En realizaciones alternativas, los sustituyentes R<sub>6</sub> y Z<sub>2</sub> en la fórmula I o en cualquiera de las fórmulas III, -V y VII se seleccionan independientemente de H (R<sub>6</sub> solo), alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alqueniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquiliniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, mercapto, alquilitio C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquenilitio C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquinitio C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-NH-, alquenil (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-NH-, alquilinil (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-NH-, alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-(alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>))N-, alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)-(alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>))N-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-, formilo, halo, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, haloalquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, haloalquilino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, haloalqueniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, haloalquiliniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, hidroxialquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> e hidroxialquilino C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

En realizaciones más específicas, un inhibidor de HSF puede definirse como un compuesto según la fórmula III o IV presentada posteriormente,



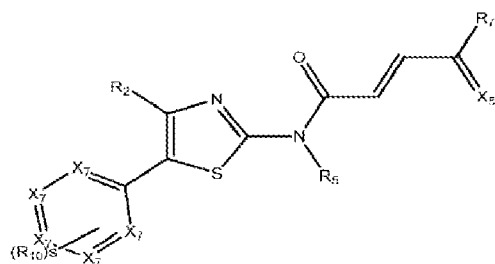
Fórmula III



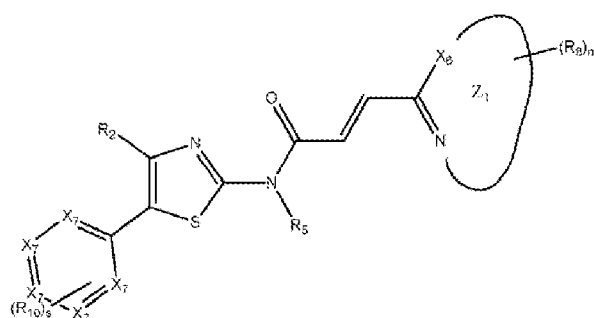
Fórmula IV

en la que  $n$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_8$ ,  $X_5$ ,  $X_6$ ,  $Z_1$  y  $Z_2$  son tal como se ha definido anteriormente para los inhibidores de fórmulas I y II, respectivamente.

En realizaciones todavía más específicas, un inhibidor de HSF puede definirse como un compuesto según la fórmula V o VI,



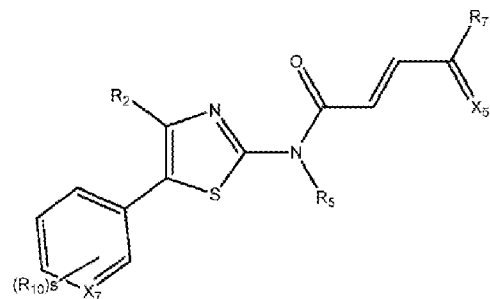
Fórmula V



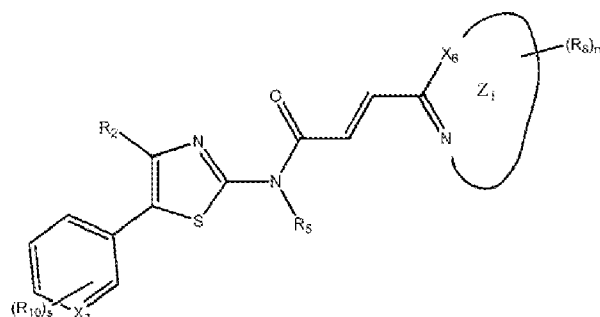
Fórmula VI

en donde n, R<sub>2</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>6</sub>, Z<sub>1</sub> y Z<sub>2</sub> son tal como se ha proporcionado anteriormente. X<sub>7</sub> es CH o N (o C(-R<sub>10</sub>)). Preferentemente, 3 o menos de X<sub>7</sub> son N, y lo más preferentemente, solo uno de X<sub>7</sub> es N; R<sub>10</sub> se define como R<sub>5</sub> y s es 0, 1, 2, 3 o 4.

Más particularmente, un inhibidor de HSF puede definirse como un compuesto según la fórmula VII o VIII,



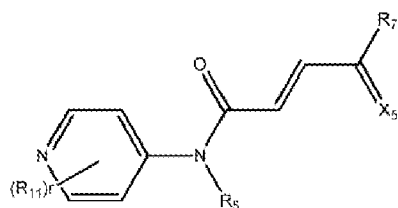
Fórmula VII



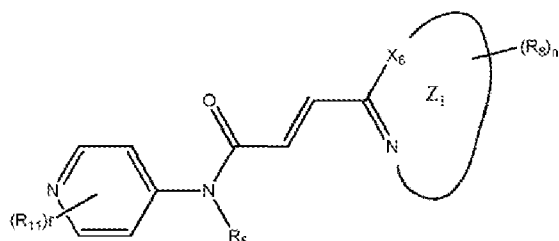
Fórmula VIII

en el que n, s, R<sub>2</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>10</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>6</sub>, X<sub>7</sub>, Z<sub>1</sub> y Z<sub>2</sub> son tal como se ha proporcionado anteriormente.

Alternativamente, un inhibidor de HSF puede definirse como un compuesto según la fórmula IX o X, posteriormente,



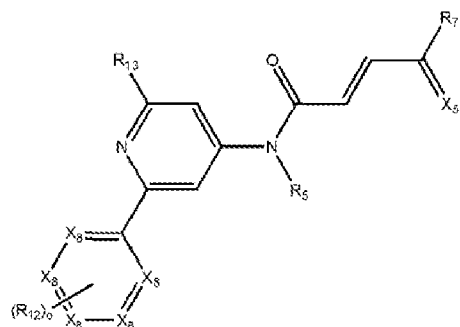
Fórmula IX



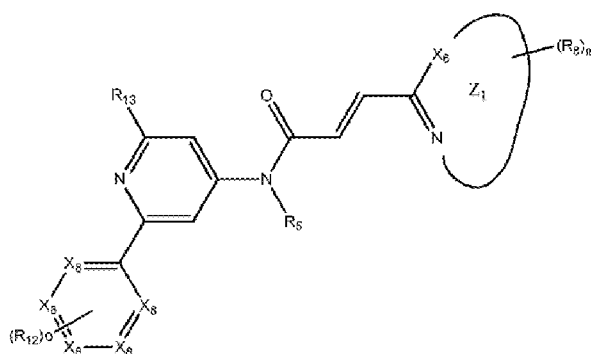
Fórmula X

o en el que n, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>6</sub>, Z<sub>1</sub> y Z<sub>2</sub> son tal como se ha definido anteriormente, r es 0 a 4 y R<sub>11</sub> se define como R<sub>5</sub>.

Más particularmente, un inhibidor de HSF puede definirse como un compuesto según la fórmula XI o XII, posteriormente, en el que n, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, X<sub>5</sub>, X<sub>6</sub>, Z<sub>1</sub> y Z<sub>2</sub> son tal como se ha definido anteriormente; o es 0, 1, 2, 3 o 4; R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub> son como R<sub>5</sub>; y X<sub>8</sub> es CH o N. Preferentemente, 3 o menos de X<sub>8</sub> son N, y lo más preferentemente, solo un X<sub>8</sub> es N,



Fórmula XI



Fórmula XII

Entre los compuestos específicos de fórmulas I a XII se incluyen, aunque sin limitarse a ellos:

- 4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-etilo
- 4-(benzo[d]tiazol-2-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo
- 4-((4-metiltiazol-2-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo
- 4-oxo-4-(feniltiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-etilo
- 4-((5-metiltiazol-2-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo
- 4-oxo-4-((5-feniltiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-etilo

4-(oxazol-2-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((1-metil-1H-pirazol-3-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-(isoxazol-3-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((1,3,4-tiadiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-(piridín-4-ilamino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-metilo  
 4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-isopropilo  
 N<sup>1</sup>-etil-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida  
 N<sup>1</sup>-isopropil-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida  
 3-(tiazol-2-ilcarbamoíl)benzoato de etilo  
 4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoato de (E)-butilo  
 4-oxo-4-((4-feniltiofén-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((2-feniltiazol-5-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((3-metiltiazol-5-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((2-metilpiridín-4-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((2-fenilpiridín-4-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-(quinolín-4-ilamino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((4-metil-5-feniltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((4,5-dimetiltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((4-ciclopropiltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((4-(piridín-2-il)tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((4-(piridín-3-il)tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((4-(piridín-4-il)tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((5-etiltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((5-(piridín-3-il)tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((5-(o-tolil)tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-dietil-N<sup>4</sup>-(4-metiltiazol-2-il)fumaramida  
 N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-dimetil-N<sup>4</sup>-(4-metiltiazol-2-il)fumaramida  
 4-(metil(tiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 2-(tiazol-2-ilamino)tiazol-5-carboxilato de etilo  
 4-4'([2,4'-bipiridín]-4-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((2-morpholinopiridín-4-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((2-(4-metilpiperazín-1-il)piridín-4-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((2-(o-tolil)piridín-4-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((2-(m-tolil)piridín-4-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((2-(p-tolil)piridín-4-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((2,6-dimetilpiridín-4-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((3-metilpiridín-4-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-([2,3'-bipiridín]-4-ilamino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 (E)-3-(pirimidín-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-3-(1,2,4-oxadiazol-5-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-3-(5,6-dihidro-4H-1,3-oxazín-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-3-(4,5-dihidrooxazol-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-4-oxo-N-(tiazol-2-il)hept-2-enamida  
 (E)-3-(oxazol-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida  
 (E)-4-oxo-N-(tiazol-2-il)hept-2-enamida  
 4-oxo-4-((2-(piridín-4-il)etil)(tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((morfolinoetil)(tiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 2-(4-etoxi-4-oxobut-2-enamido)tiazol-4-carboxilato de (E)-metilo  
 4-((4-etil-5-feniltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((2-(1-metil-1H-imidazol-4-il)etil)(tiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-((4-carbamoíltiazol-2-il)amino)-4-oxobut-2-enoato de (E)-etilo  
 4-oxo-4-((piridín-2-il)etil)(tiazol-2-il)amino)but-2-enoato de (E)-etilo  
 (E)-3-(5,6-dihidro-4H-[1,3]oxazín-2-il)-N-metil-N-(5-(piridín-3-il-tiazol-2-il)acrilamida.

Los inhibidores de HSF pueden prepararse mediante varios métodos bien conocidos por el experto en la materia, incluyendo, aunque sin limitación, los descritos en el apartado de ejemplos, o mediante modificaciones de dichos métodos mediante aplicación de técnicas estándares conocidos por el experto en síntesis orgánica. Todos los procedimientos dados a conocer en relación con la presente exposición está contemplado que se pongan en práctica a cualquier escala, incluyendo la escala de miligramos, gramos, multigramos, kilogramos, multikilogramos o la escala industrial comercial.

*Caracterización adicional de inhibidores de HSF seleccionados*

Se incluyó I<sub>HSF</sub> 001 en la sub-biblioteca como un compuesto que satisfacía los valores paramétricos del farmacóforo A4 modelizado para ajustarse a la cavidad más grande predicha del dominio de unión a ADN de HSF1 humano (cavidad A). Debido a que dicha cavidad está alejada de la zona de interacción de ADN supuesta, no se esperaba que el compuesto 001 y sus análogos fuesen capaces de interferir directamente con la unión del ADN al dominio de unión a ADN de HSF1. Sin embargo, podrían afectar a la unión del ADN indirectamente, si su unión altera la conformación del dominio de unión a ADN de HSF1. Alternativa o adicionalmente, los compuestos podrían interferir con la homooligomerización de HSF1 o la unión de cofactores. Los experimentos iniciales han mostrado que determinados compuestos, incluyendo I<sub>HSF</sub> 001, presentan efectos aparentes sobre la unión de ADN de HSF1, mientras que otros compuestos no los presentaron. Los presentes inventores seleccionaron I<sub>HSF</sub> 058 y 115 para la caracterización adicional. Aparentemente I<sub>HSF</sub> 058 afectaba a la unión del ADN de HSF1 (pero ver el comentario proporcionado posteriormente), mientras que I<sub>HSF</sub> 115 no lo hacía. Se detectaron las interacciones directas entre I<sub>HSF</sub> y HSF1 mediante resonancia del plasmón superficial (RPS). El HSF1 humano de longitud completa recombinante o un fragmento de dominio de unión a ADN recombinante de HSF1 humano sirvió como ligando. Los sensogramas de RPS en la fig. 2C demuestran que tanto I<sub>HSF</sub> 058 como I<sub>HSF</sub> 115 interactuaron de una manera dependiente de la dosis con HSF1 de longitud completa, así como con el fragmento de dominio de unión a ADN de HSF1. Las interacciones se detectaron a concentraciones de compuesto de 15,6 µM y superiores. Estos resultados demuestran que los compuestos son capaces de unión directa del dominio de unión a ADN de HSF1. Sin embargo, las concentraciones de compuesto a las que se observaron interacciones directas eran más altas que las que causaban la inhibición de la expresión de RLuc inducida en células Z74. Existen varios factores que podrían explicar esta diferencia de sensibilidad. Uno de dichos factores podría ser la limitada solubilidad acuosa de I<sub>HSF</sub> 058 y 115, que podría haber afectado negativamente a los experimentos de interacción. El HSF1 recombinante o su fragmento de dominio de unión a ADN podría no poseer la conformación nativa (o podría estar limitado a conformaciones que permiten interacciones con el I<sub>HSF</sub> menos bien que otras conformaciones que ocurren en la célula). Carecen de modificaciones post-translationales y no están asociados, como HSF1 lo está en su medio celular, a complejos multichaperona y/o otros cofactores. Además, la inmovilización de HSF1 recombinante y fragmento de unión a ADN de HSF1 en un chip sensor podría haber alterado adicionalmente sus conformaciones respectivas (o limitada su flexibilidad conformacional), poniendo en peligro adicionalmente su capacidad de interactuar con el I<sub>HSF</sub>.

Los ensayos de desplazamiento de movilidad electroforética (EMSA) utilizando una sonda de ADN de HSE marcada radioactivamente se llevaron a cabo para evaluar la actividad de unión a ADN de HSF1 en extractos de células HeLa tratadas térmicamente (43 °C/30 min) que habían sido expuestas a diferentes concentraciones del compuesto 058 o 115 (fig. 3A, paneles superiores). La exposición a I<sub>HSF</sub> 058 a una concentración de 25 o 50 µM resultó en importantes reducciones de la actividad de unión a ADN inducida por calor. I<sub>HSF</sub> 115 no consiguió presentar un efecto similar sobre la actividad de unión del ADN. La transferencia western (TW) anti-HSF1 de los mismos extractos reveló niveles reducidos de HSF1 en las células que habían sido expuestas a I<sub>HSF</sub> 058 (fig. 3A, paneles intermedios), indicando que el compuesto había inducido la degradación de HSF1. I<sub>HSF</sub> 115 no afectó los niveles de HSF1. La degradación de HSF1 se correlaciona bien con la reducción observada de la actividad de unión al ADN. Por lo tanto, la degradación de HSF1 proporciona una explicación suficiente de la actividad reducida de unión a ADN de HSE en las células tratadas con I<sub>HSF</sub> 058. Los presentes inventores concluyeron que el compuesto 058 no perjudicó la capacidad de unión a ADN sino la estabilidad de HSF1. También se llevó a cabo un ensayo EMSA utilizando extractos de células HeLa que habían sido tratadas térmicamente a 43 °C durante 30 min. En estos ensayos, no se observó ninguna reducción de la actividad de unión de ADN a HSE en la presencia de I<sub>HSF</sub> 001, 011, 049, 050, 051, 052, 057 o 059 a concentraciones tan altas como aproximadamente 0,5 mM.

Los presentes inventores también investigaron si los compuestos eran capaces de interferir con la oligomerización de HSF1. Se sometieron alícuotas de los extractos a entrecruzamiento con EGS (etilenglicol-bis(succinimidilsuccinato)) y después se reanalizaron mediante TW anti-HSF1. No pudo observarse ningún efecto negativo de la oligomerización (fig. 3A, paneles inferiores). Se observó nuevamente la degradación inducida por I<sub>HSF</sub> 058 de HSF1 en este análisis. Se llevaron a cabo experimentos de inmunoprecipitación de la cromatina para averiguar si I<sub>HSF</sub> podría afectar a la unión del ADN de HSF1 in vivo. En uno de estos experimentos, se expusieron cultivos de células HeLa durante dos horas a 12,5 µM de I<sub>HSF</sub> 058 o 115, respectivamente, o a vehículo (fig. 3B). Posteriormente, los cultivos se trataron térmicamente y después se procesaron utilizando un procedimiento rutinario. Los fragmentos de ADN se coprecipitaron con anticuerpos de HSF1 y un segmento de promotor del gen *hspa1a* que incluía la secuencia de HSE proximal al gen y la secuencia de caja TATA se amplificaron mediante PCR en tiempo real. Los resultados indicaron que la ocupación de HSF1 del promotor de *hspa1a* no se redujo sustancialmente en células que habían sido expuestas a I<sub>HSF</sub> 115, indicando que el inhibidor de HSF1 tampoco afectó la unión de ADN de HSF1 in vivo. El efecto observado con I<sub>HSF</sub> 058 se atribuyó a la desestabilización de HSF1 anteriormente mencionada.

Para evaluar los efectos transcripcionales de I<sub>HSF</sub>, se expusieron cultivos de células Z74 durante dos horas a I<sub>HSF</sub> 058 o I<sub>HSF</sub> 115 a diferentes concentraciones, o a vehículo. Tras el tratamiento térmico y una hora postincubación a 37 °C, se prepararon extractos y se cuantificó el ARN de *rluc*, *hsp70b* (*hspa7*) y *hspa1a* poliadenilado mediante transcripción inversa y PCR en tiempo real. La exposición a los compuestos resultó en una reducción dependiente de la dosis de los niveles de transcrito del gen *rluc* controlado por el promotor *hsp70b/hspa7* (fig. 4A, panel superior). I<sub>HSF</sub> 115 presentó efectos algo más importantes que I<sub>HSF</sub> 058. Se indica que los niveles de ARNm de *rluc* ya resultaron sustancialmente reducidos a concentraciones de 1 µM del I<sub>HSF</sub>. Estos datos aparentemente reflejan los efectos reales del I<sub>HSF</sub> sobre la transcripción génica controlada por el promotor controlador por calor *hsp*. Los presentes inventores

tendían a descartar la posibilidad de que estos últimos datos reflejan efectos sobre la estabilidad de los transcritos. En efecto, los compuestos fueron diseñados para unirse a HSF1 y se observó que efectivamente lo hacía. Nada sugiere que I<sub>HSF</sub> también podría interactuar con transcritos de los genes HSF1 diana. También se observaron efectos de inhibición dependiente de la dosis sobre la acumulación de transcritos para los genes *hspa1a* y *hspa7* (*hsp70b*), aunque estos últimos genes aparentemente eran algo menos sensibles a I<sub>HSF</sub> que el gen *hsp70b/hspa7-rluc*, quizá debido a uno o más mecanismos de compensación (fig. 4A, paneles inferiores).

También pudieron demostrar efectos de I<sub>HSF</sub> al nivel de la acumulación inducida por calor de Hsp70 inducible (principalmente productos de los genes *hspa1a* y *hspa1b*). Los experimentos de TW (fig. 4B) informaron de efectos de inhibición detectables de I<sub>HSF</sub> 115 a una concentración de 3,125  $\mu$ M y efectos más sustanciales a 6,25  $\mu$ M. I<sub>HSF</sub> 058 fue menos eficaz que I<sub>HSF</sub> 115.

El reclutamiento de HSF1 a promotores diana en respuesta a un estrés está mediado por ATF1/CREB. Takii, R. et al. (2015) Mol. Cell. Biol. 35: 11-25. ATF1/CREB regula el complejo de transcripción de HSF1 inducido por estrés, que incluye complejo de remodelado de cromatina BRG1 y p300/CBP. El primer complejo promueve un estado activo de la cromatina en los promotores, mientras que p300/CBP acelera la parada de la actividad de unión a ADN de HSF1, así como estabiliza HSF1 frente a la degradación proteasómica durante la recuperación del estrés. A fin de evaluar los efectos del I<sub>HSF</sub> sobre el ensamblaje del complejo de transcripción, se utilizó una línea celular derivada de HeLa que expresa establemente un HSF1 etiquetado con FLAG C-terminalmente. Los cultivos se trataron térmicamente durante 30 min a 43 °C en la presencia o en ausencia de I<sub>HSF</sub> 115; se prepararon extractos y HSF1 etiquetado se inmunoprecipitó utilizando un anticuerpo anti-FLAG. El análisis de TW de los inmunoprecipitados reveló que I<sub>HSF</sub> 115 reduce drásticamente la interacción HSF1-ATF1. Estos resultados sugieren fuertemente que I<sub>HSF</sub> 115 interfiere con la formación de los complejos de transcripción basados en ATF1 que son cruciales para la transducción inducida por calor de los genes diana de HSF1.

#### *Los inhibidores de HSF reducen la viabilidad de un amplio abanico de células de cáncer*

Se expusieron cultivos de células HeLa durante 96 horas a diferentes concentraciones de I<sub>HSF</sub> 001, 058 y 115, y se evaluó la viabilidad utilizando un ensayo de azul Alamar. Se señala que dicho ensayo estándar examina solo las células unidas. Esta cuestión se comentará en mayor detalle posteriormente. La viabilidad se redujo de una manera dependiente de la dosis (fig. 5A). El compuesto 115 resultó considerablemente más eficaz que el compuesto 058, que a su vez, resultó más eficaz que el compuesto 001. La citotoxicidad relativa de los compuestos aparentemente refleja sus actividades respectivas como inhibidores de la función de HSF1 ((inhibición de la expresión de RLuc en células Z74). A continuación, los presentes inventores examinaron la viabilidad de diferentes líneas celulares de cáncer humanas a una exposición de 96 horas al compuesto 115 (Tabla 3). Se informó que HSF1 resulta necesario para una expresión óptima de p21 y para la parada del ciclo celular mediada por p53 en respuesta a genotoxinas. Logan, I.R. et al. (2009) Nucleic Acids Res. 37: 2962-2971. Estos resultados sugieren que HSF1 también podría desempeñar una función proapoptótica dependiente de p53. Se incluyeron las líneas celulares de diferente estado de p53 en los experimentos con el fin de averiguar si la sensibilidad a I<sub>HSF</sub> 115 estaba relacionada con el estado de p53. La exposición al I<sub>HSF</sub> 115 redujo la viabilidad en todas las líneas celulares sometidas a ensayo, aunque su sensibilidad al compuesto variaba mucho. Se muestra en las figs. 5A y B una comparación entre células HeLa moderadamente sensibles y células MM.1S de mieloma múltiple altamente sensibles. La pérdida completa de viabilidad de las células MM.1S ocurrió a una concentración de I<sub>HSF</sub> 115 de 6,25  $\mu$ M, en algunos experimentos ya a 3,125  $\mu$ M. No pudo observarse ningún efecto sobre el estado de p53. Se señala que se sometieron a ensayo varios inhibidores de HSF adicionales de la presente exposición y se encontró que reducían eficazmente la viabilidad de las células de cáncer humanas.

Unos estudios adicionales tenían el objetivo de encontrar si en las células de cáncer expuestas a I<sub>HSF</sub> se había detenido solo el crecimiento o habían sido efectivamente matadas y, si habían sido matadas, mediante qué mecanismo. En un tipo de experimento, se expusieron grupos paralelos de cultivos de células HeLa durante 24 o 96 horas a diferentes concentraciones de I<sub>HSF</sub> 115. El primer grupo se sometió a ensayo para la viabilidad mediante el ensayo de azul Alamar sin separación previa de las células flotantes. Las células adheridas y las células flotantes se sometieron a ensayo por separado en el segundo grupo; las células flotantes se sembraron en placa seguidamente y se incubaron durante 72 horas sin compuesto. Se encontró que las células se desprendían de las placas de una manera dependiente de la concentración de I<sub>HSF</sub> (fig. 6A). La señal de viabilidad (en cultivos completos y, más drásticamente, cuando solo se analizaron células adheridas) se redujo como función de la concentración de I<sub>HSF</sub>. La mayoría de células flotantes era incapaz de readherirse en ausencia del compuesto (no mostrado); aparentemente estas células habían muerto. Se observaron efectos más profundos tras 96 horas (panel derecho) que tras 24 horas de exposición (panel izquierdo). Por lo tanto, las células HeLa fueron matadas por I<sub>HSF</sub> 115 de una manera dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. En un tipo diferente de experimento, se tiñeron con azul tripán grupos de cultivos de células HeLa que habían sido expuestas a I<sub>HSF</sub> 115 durante 15, 24 y 96 horas. Se contaron las células teñidas (necróticas) y no teñidas (vivas) (fig. 6B). I<sub>HSF</sub> 115 causó la reducción del número de células vivas y el incremento del número de células necróticas de una manera dependiente de la concentración y del tiempo. Ya era evidente un incremento de las células necróticas tras una exposición de 15 horas a 3,125  $\mu$ M de I<sub>HSF</sub>. Las células HeLa expuestas a I<sub>HSF</sub> 115 aparentemente murieron mediante un mecanismo no apoptótico. Un análisis citométrico de las células HeLa expuestas a 12,5 o 25  $\mu$ M de I<sub>HSF</sub> 115 durante hasta 24 h reveló solo fracciones menores sub-G0/G1 (6 % o menos de células

incluidas) (fig. 6D). En un ensayo de doble tinción con anexina V/7-aminoactinomicina-D en células HeLa expuestas a 25  $\mu\text{M}$  de I<sub>HSF</sub> 115 durante hasta 24 horas, no más de aproximadamente 15 % de células vivas estaban teñidas con anexina V (fig. 6C). Se llevó a cabo un análisis similar con células de mieloma múltiple MM.1S. En contraste con lo observado para las células HeLa, el mecanismo de muerte celular de las células MM.1S incluía un componente apoptótico destacado.

Tabla 3: Eficacia de I<sub>HSF</sub> 115 en la reducción de la viabilidad de las líneas celulares de cáncer humanas - ensayo de azul Alamar

| Línea celular | Cáncer                               | Estado de P53 | EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) |
|---------------|--------------------------------------|---------------|------------------------------------|
| HeLa          | Cuello uterino                       | Peso          | 6,2                                |
| BT-20         | Mama                                 | Mut.          | 8,2                                |
| BT-474        | Mama                                 | Mut.          | 5,2                                |
| MCF-7         | Mama                                 | Peso          | 5,2                                |
| MDA-MB-231    | Mama                                 | Mut.          | 2,2                                |
| T47D          | Mama                                 | Mut.          | 4,4                                |
| CAMA-1        | Mama                                 | Mut.          | 3,5                                |
| HCC1143       | Mama                                 | Mut.          | 4,8                                |
| PC-3          | Próstata                             | Nula          | 4,0                                |
| NCI-H460      | Pulmón                               | Peso          | 9,4                                |
| A549          | Pulmón                               | Peso          | 18,8                               |
| NCI-H3122     | Pulmón                               | Peso          | 11,0                               |
| NCI-H1975     | Pulmón                               | Peso          | 5,1                                |
| NCI-H2228     | Pulmón                               | Peso          | 12,8                               |
| THP-1         | leucemia monocítica aguda            | Mut.          | 6,9                                |
| Saos-2        | osteosarcoma                         | Nula          | 8,0                                |
| MG-63         | osteosarcoma                         | Mut.          | 4,6                                |
| U-2 OS        | osteosarcoma                         | WT            | 5,2                                |
| HepG2         | Hepatocelular                        | Peso          | 5,2                                |
| MM.1S         | Mieloma múltiple                     | Peso          | 1,7                                |
| IM9           | Mieloma múltiple                     | Peso          | 2,3                                |
| sNF02.2       | Maligno de vaina nerviosa periférica | Peso          | 8,4                                |
| sNF96.2       | Maligno de vaina nerviosa periférica | Peso          | 4,2                                |
| SK-OV-3       | Carcinoma ovárico                    | Mut.          | 15                                 |
| SK-N-SH       | neuroblastoma                        | Peso          | 4,0                                |
| MNNG/HOS      | osteosarcoma                         | Mut.          | 9,2                                |
| OV56          | Carcinoma ovárico                    | Mut.          | 6,8                                |
| PEA1          | Carcinoma ovárico                    | Mut.          | 4,1                                |
| MDA-MB-453    | Mama                                 | Mut.          | 4,2                                |
| U266B1        | Mieloma múltiple                     | Mut.          | 3,9                                |
| RPMI 8266     | Mieloma múltiple                     | Mut.          | 3,6                                |
| A673          | Sarcoma de Ewing                     | Mut.          | 1,9                                |
| MM.1R         | Mieloma múltiple                     | WT            | 1,7                                |

Con el fin de obtener pruebas de que el efecto citotóxico de I<sub>HSF</sub> 115 es una consecuencia por lo menos en parte de la inhibición de HSF1, los presentes inventores transdujeron células HeLa con lentivirus expresante de ARNip de HSF1 y líneas celulares seleccionadas que mostraban niveles bajos de HSF1. Las líneas más gravemente deficientes en HSF1 crecieron lentamente. La fig. 7 muestra las propiedades de una de dichas líneas, KD 13, que se comparó con las células transducidas con lentivirus de control (control KD). La TW en la fig. 7A (panel superior) confirma que la línea KD 13 está esencialmente desprovista de HSF1. El panel inferior compara el crecimiento de la línea celular con la de las células de control (el gráfico muestra el número de células (vivas) excluyentes de azul tripán tras 1 a 4 días de cultivo). Los presentes inventores concluyeron que la línea KD13 había superado parcialmente su dependencia de HSF1. Si la citotoxicidad de I<sub>HSF</sub> 115 estuviese mediada por la inhibición de HSF1, la línea celular que hubiese perdido parcialmente su dependencia de HSF1 debería haber sido más resistente a la eliminación por I<sub>HSF</sub> 115 que las células transducidas por lentivirus de control. Los resultados de los ensayos con azul Alamar realizados tras 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de I<sub>HSF</sub> 115 mostraron que este era el caso (fig. 7B).

#### Usos de inhibidores de HSF

En general, los inhibidores de HSF de la presente exposición pueden utilizarse para inhibir la capacidad de transactivación inducida por estrés de HSF1 de mamífero en una célula de mamífero o animal, en una célula, tejido, órgano u organismo humano. La expresión «capacidad de transactivación inducida por estrés» se refiere a la capacidad de HSF1 activado de causar una acumulación transitoria de transcritos de sus genes diana. Debido a que HSF1 es el regulador clave de la respuesta de proteínas de estrés, es decir, es un regulador clave de la proteostasis,

una de las principales aplicaciones de los inhibidores de HSF de la presente exposición estará en la terapia de afecciones o enfermedades que se caracterizan por una demanda incrementada de actividad de HSF1 por determinadas células, tejidos u órganos en comparación con las células, tejidos u órganos correspondientes en sujetos sanos. Con frecuencia, las células, tejidos u órganos en un sujeto afectado muestran niveles incrementados de HSF1 y/o de actividad de HSF1 (según se detecta mediante cualquier ensayo adecuado, p. ej., ensayos de unión a ADN, ensayos de transactivación, ensayos de acumulación nuclear, TW, etc.). Entre las enfermedades que generalmente presentan aparentemente una demanda incrementada de actividad de HSF1 se incluyen cánceres de diferentes tipos. Además, determinadas infecciones también resultan en la activación de HSF1, y la propagación del agente infeccioso es dependiente de dicha actividad de HSF1 inducida. Un ejemplo recientemente encontrado implicado ortopoxvirus. Filone et al. (2014) PLoS Pathog. 2014, 10, e1003904. Ver también Wang et al. (2010) J. Transl. Med. 8: 44. En dichas infecciones, la administración de un inhibidor de HSF1 pueden ser una medida terapéutica eficaz. Además, los inhibidores de HSF1 podrían encontrar utilidad en situaciones en las que la actividad de HSF1 inducida farmacológicamente podría presentar consecuencias negativas o no deseadas (p. ej., durante el tratamiento con inhibidores de HSP90). Los experimentos con una cepa de ratón HSF1-/- han revelado que HSF1 es un gen de efecto materno. Ningún embrión que careciese de actividad de HSF1 se desarrolla hasta el estadio de blastocisto. Christians et al. (2000) Nature 407: 693-4. Por lo tanto, se espera que los inhibidores de HSF1 presentan actividad anticonceptiva.

En determinadas realizaciones, se utiliza uno o más de los inhibidores de HSF de la presente exposición ya sea solos o en combinación con otros agentes o regímenes terapéuticos anticáncer, tales como la terapia de radiación para prevenir o tratar el cáncer o la enfermedad neoplásica. Entre los cánceres a tratar se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, linfoma de células B, linfoma de células T, mieloma, leucemia (LMA, LLA, LMC, LLC), neoplasias hematopoyéticas, timoma, linfoma, sarcoma, cáncer pulmonar, cáncer hepático, linfoma no de Hodgkin, linfoma de Hodgkin, linfoma de Burkitt, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer pulmonar, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer prostático, cáncer ovárico, melanoma primaria o metastásico, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, carcinoma de células sebáceas, cáncer cerebral (astrocitoma, glioma, glioblastoma, ependimoma, meduloblastoma, meningioma, oligodendroglioma y oligoastrocitoma), angiosarcoma, hemangiosarcoma, adenocarcinoma, liposarcoma, carcinoma de cabeza y cuello, carcinoma de tiroides, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma, cáncer testicular, cáncer uterino, cáncer de cuello uterino, cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer oral, cáncer nasofaríngeo, cáncer orofaríngeo, cáncer esofágico, cáncer de estómago, mieloma múltiple, cáncer de conducto biliar, cáncer de cuello uterino, cáncer laríngeo, cáncer peneano, cáncer uretral, cáncer anal, cáncer vulvar, cáncer vaginal, cáncer de vesícula biliar, timoma, cáncer de glándulas salivales, cáncer de labios y cavidad oral, cáncer adrenocortical, cáncer de piel no melanoma, mesotelioma pleural, cáncer articular, cáncer hipofaríngeo, cáncer de uréter, cáncer de peritoneo, cáncer de omento, cáncer mesentérico, sarcoma de Ewing, rabdomiosarcoma, cáncer de cordón espinal, cáncer endometrial, neuroblastoma, cáncer pituitario, retinoblastoma, cáncer ocular, y cáncer de células de los islotes, y cualquier otro cáncer actualmente conocido o identificado posteriormente como dependiente o que posiblemente se beneficie de la actividad de HSF.

Entre los ejemplos de tipos de agentes terapéuticos anticáncer con los que pueden combinarse los inhibidores de HSF de la presente exposición se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, p. ej., agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, agentes utilizados en terapia de radiación (isótopos radioactivos (p. ej.,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$  y  $^{186}\text{Re}$ ), toxinas, tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de los mismos, agentes antiangiogénesis, agentes apoptóticos, agentes antitubulina, y otros agentes para tratar el cáncer, tales como inhibidores de HSP90, el proteasoma o las histona desacetiladas (HDAC, por sus siglas en inglés), en particular HDAC6, anticuerpos anti-HER-2 (p. ej., Herceptin™ (Trastuzumab)), anticuerpos anti-CD20, antagonista de receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR, por sus siglas en inglés) (p. ej., un inhibidor de tirosina quinasa), inhibidor de HER1/EGFR (p. ej., erlotinib (Tarceva™)), inhibidores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (p. ej., Gleevec™ (mesilato de Imatinib)), un inhibidor de COX-2 (p. ej., celecoxib), interferones, citoquinas, antagonistas (p. ej., anticuerpos neutralizantes) que se unen a una o más de las dianas siguientes: Uno o más receptores de ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA o VEGF, TRAIL/Apo2, y otros agentes químicos bioactivos y orgánicos. Las combinaciones de los mismos. también se encuentran incluidos en la exposición.

Entre los agentes quimioterapéuticos de ejemplo se incluyen uno o más compuestos químicos útiles en el tratamiento del cáncer. Entre los ejemplos no limitativos de agentes quimioterapéuticos se incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y CYTOXAN™, ciclofosfamida; sulfonatos de alquilo, tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carbocadona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilol-melanina; acetogeninas (tales como bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente, criptoficina-1 y criptoficina-8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como antibióticos enediina (p. ej., caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma1); dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo neocarzinostatina y antibióticos cromoproteínas enediina relacionados, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas,

cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYCIN™, doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, pepломicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina, tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglucetimidina, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tales como ácido folínico; aceglatona; glucósido aldofosfamidato; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguanina; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK™, complejo de polisacáridos (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofurano; espiro germanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (tales como T-2 toxin, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamidato; tiotepa; taxoides, p. ej., TAXOL™, paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™, formulación de nanopartículas manipulada con albúmina y libre de Cremophor de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) y doxetaxel TAXOTERE™ (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; gemcitabina GEMZAR™; 6-tioguanina; mercaptopurina; análogos de platino, tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamidato; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina NAVELBINE™; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecán (Camptosar, CPT-11) (incluyendo el régimen de tratamiento de irinotecán con 5-FU y leucovorina); inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, incluyendo el régimen de tratamiento de oxaliplatino (FOLFOX); inhibidores de PKC-alfa, Raf, H-Ras, EGFR (p. ej., erlotinib (Tarceva™)) y VEGF-A que reduce la proliferación celular y las sales, ácido o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos o derivados de cualquiera de los anteriormente indicados. También se encuentran comprendidos agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción hormonal sobre los tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERM, por sus siglas en inglés), incluyendo, por ejemplo, el tamoxifeno (incluyendo el tamoxifeno NOLVADEX™), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno FARESTON; inhibidores de aromatasa que inhiben el enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazolas, aminoglucetimidina, acetato de megestrol MEGASE™, exemestano AROMASIN™, formestano, fadrozol, vorozol RIVISOR™, letrozol FEMARA™ y anastrozol ARIMIDEX™, y antiestrógenos, tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolid y goserelina; así como troxacitabina (un análogo de nucleósido citosina 1,3-dioxolano); oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en rutas de señalización implicados en la proliferación celular aberrante, tal como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; ribozimas, tales como inhibidor de expresión de VEGF (p. ej., ribozima ANGIOZYME™) y un inhibidor de expresión de HER2; vacunas, tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN™, vacuna LEUVECTIN™ y vacuna VAXID™, PROLEUKIN™, rIL-2; inhibidor de topoisomerasa-1 LURTOTECAN™, rmRH ABARELIX™, vinorelbina y esperamicinas, y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

La expresión "terapia de radiación" se refiere a la utilización de rayos gamma o rayos beta dirigidos para inducir daños suficientes en una célula a fin de limitar su capacidad de funcionar normalmente o para destruir la célula por completo. Se apreciará que existen muchas maneras conocidas de la técnica para determinar la dosis y la duración del tratamiento. Los tratamientos típicos se proporcionan en forma de una administración de una vez y las dosis típicas son de entre 10 y 200 unidades (Grays) cada día.

Debido a que los inhibidores de HSF de la presente exposición están destinados a dianas de células tumorales hasta el momento no explotadas (es decir, HSF), pueden potenciar, aditiva o, posiblemente, sinérgicamente, la actividad de los agentes terapéuticos anticáncer anteriormente mencionados o de la terapia de radiación. Las combinaciones preferentes comprenderán un inhibidor de HSF de la presente exposición y un agente terapéutico anticáncer que induce una respuesta de proteínas de estrés, es decir, que potencia la expresión de proteínas de choque térmico. Los niveles elevados de proteínas de choque térmico presentan efectos citoprotectores y, de esta manera, pueden afectar negativamente, o es conocido que afectan negativamente, la eficacia anticáncer de dichos agentes. Entre los agentes que inducen la expresión de proteínas de choque térmico se incluyen inhibidores de HSP90, inhibidores de HDAC6 e inhibidores del proteasoma.

Entre los ejemplos de inhibidores de HSP90 que pueden utilizarse en combinación con un inhibidor de HSF de la presente exposición se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, antibióticos quinona ansamicina, tales como macbecinas, geldanamicina, incluyendo derivados de geldanamicina, tales como 17-AAG, herbimicina A, radicol y compuestos sintéticos que se unen al sitio de unión a ATP N-terminal de HSP90. También se han identificado inhibidores de HSP90 que se unen al sitio de unión a ATP C-terminal, tales como novobiocina, cisplatino, epigallocatequina-3-galato (EGCG,

por sus siglas en inglés) y taxol (Donnelly y Blagg (2008) *Curr. Med. Chem.* 15: 2702-2717). Otro inhibidor de HSP90 que aparentemente interactúa con el sitio de unión a ATP C-terminal es el celastrol y sus derivados (Zhang et al. (2009) *J. Biol. Chem.* 284: 33381-33389). También se describen inhibidores de HSP90 en las publicaciones de patente US n.º 2008/0269218, n.º 2008/0306054, n.º 2010/0249231 y n.º 2011/0112099.

Entre los inhibidores de la actividad de HDAC6 que pueden utilizarse en combinación con un inhibidor de HSF de la presente exposición se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, inhibidores de HDAC basados en ácido hidroxámico, ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA, por sus siglas en inglés) y sus derivados, NVP-LAQ824, tricostatinas, incluyendo tricostatina A, scriptaid, ácido m-carboxicinámico-ácido bis-hidroxámico (CBHA, por sus siglas en inglés), ABHA, piroxamida, propenamidas, oxamflatina, ácido 6-(3-clorofenilureido)caproico (3-C1-UCHA), A-161906, JNJ-16241199, tubacina y análogos de tubacina, ARNip (ver, p. ej., la patente US n.º 2007/0207950), butirato, fenilbutirato, butirato sódico, valproato, (-)-depudecina, sirtinol, ácido hidroxámico, tetrapéptidos cíclicos que contienen epoxicetona, trapoxinas, toxina HC, clamidocina, diheteropéptido, WF-3161, Cyl-1, Cyl-2, tetrapéptidos cíclicos que no contienen epoxicetona, PXD101, inhibidores de HDAC diméricos, determinados depsipéptidos, FR901228 (FK228), apicidina, compuesto APHA 8, péptidos que contienen ácido hidroxámico cíclico (CHAPS), benzamidas y análogos de benzamida, MS-275 (MS-27-275), CI-994, LBH589, deprudecina, compuestos de organoazufre y cualesquiera combinaciones de los mismos. Un inhibidor de la actividad de HDAC6 puede ser un inhibidor que actúa al nivel de la transcripción y/o traducción de la proteína HDAC6, en el que dicho inhibidor altera la actividad de HDAC6 mediante la reducción de la cantidad de proteína HDAC6 funcional producida. Un inhibidor de la actividad de HDAC6 puede ser, aunque sin limitación, un ácido nucleico antisentido, un ribozima (p. ej., tal como se describe en la patente US n.º 5.877.022), ARN que producen el «trans-splicing» mediado por un complejo de corte y empalme (Puttaraju et al. (1999) *Nature Biotech.* 17:246; patente US n.º 6.013.487; patente US n.º 6.083.702), ARN que inducen mecanismos de interferencia de ARN (ARNi), incluyendo ARN interfirientes pequeños (ARNip) que actúan de mediadores en el silenciamiento génico (Kawaguchi et al., (2003) *Cell* 115:727-738; Sharp et al. (2000) *Science* 287:2431) y/o otros ARN no traducidos, tales como los ARN «guía» (Gorman et al., (1998) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 95:4929; patente US n.º 5.869.248) y similares, tales como los conocidos de la técnica.

Entre los ejemplos de un inhibidor de proteasoma (European Journal of Cancer, 42, 1623, (2006)) que pueden utilizarse en combinación con un inhibidor de HSF de la presente exposición se incluyen, por ejemplo, bortezomib, MG-132, carfilzomib (PR-171; documento n.º US2005/0245435), NPI-0052 (Br. J. Cancer, 95, 961, (2006)), SC-68896 (documento n.º WO2007/017284), tiropeptina A, TP-110, TP-104 (documento n.º WO2005/105826), belactosinas (Biochem. Pharmacol., 67, 227, (2004)) y similares.

También pueden utilizarse inhibidores de HSF de la exposición para mitigar la resistencia a agentes terapéuticos anticáncer con diana en la señalización a través de HSF. Por ejemplo, la sobreexpresión de ErbB2 resulta en una glucólisis aeróbica potenciada como consecuencia de la sobreexpresión de HSF1 y su diana LDH A. El trastuzumab inhibe esta actividad. La resistencia al trastuzumab puede revertirse mediante la inhibición de la glucólisis aeróbica, que puede conseguirse mediante inhibición de HSF1. Zhao et al. (2011) *Cancer Res.* 71: 4585-97; Zhao et al. (2009) *Oncogene* 28: 3689-3701.

El agente terapéutico anticáncer y/o la terapia de radiación pueden administrarse de acuerdo con protocolos terapéuticos bien conocidos de la técnica. Resultará evidente para el experto en la materia que la administración del agente terapéutico anticáncer y/o la terapia de radiación pueden variarse dependiendo de la enfermedad bajo tratamiento y los efectos conocidos del agente quimioterapéutico y/o la terapia de radiación sobre esa enfermedad. Además, de acuerdo con los conocimientos que posee el médico clínico experto, los protocolos terapéuticos (p. ej., las cantidades de dosis y los tiempos de administración) pueden modificarse en vista de los efectos observados de los agentes terapéuticos administrados (es decir, agente terapéutico anticáncer o radiación) sobre el paciente, y en vista de las respuestas observadas de la enfermedad frente a los agentes terapéuticos administrados, y los efectos adversos observados.

Además, en general, un inhibidor de HSF de la presente exposición y un agente terapéutico anticáncer no es necesario que se administren en la misma composición farmacéutica y, debido a diferencias en las características físicas y químicas, pueden administrarse por vías diferentes. Por ejemplo, los compuestos de la presente exposición pueden administrarse por vía intravenosa, mientras que el agente quimioterapéutico puede administrarse por vía oral. La determinación del modo de administración y la recomendabilidad de la administración, en donde sea posible, en la misma composición farmacéutica, se encuentra perfectamente comprendida en los conocimientos del médico clínico experto. La administración inicial puede llevarse a cabo de acuerdo con protocolos establecidos conocidos de la técnica y, a continuación, basarse en los efectos observados, la dosis, los modos de administración y los tiempos de administración pueden ser modificados por el médico clínico experto.

La elección particular de agente quimioterapéutico o radiación dependerá del diagnóstico de los médicos y su evaluación de la afección del paciente y el protocolo de tratamiento apropiado.

Un inhibidor de HSF de la presente exposición y un agente terapéutico anticáncer y/o radiación pueden administrarse concurrentemente (p. ej., simultáneamente, esencialmente simultáneamente o dentro del mismo protocolo de tratamiento) o secuencialmente, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad proliferativa, la afección del paciente

y la selección real del agente terapéutico anticáncer y/o radiación que debe administrarse junto con el inhibidor de HSF.

En el caso de que un inhibidor de HSF de la presente exposición y el agente terapéutico anticáncer y/o radiación no se administren simultáneamente o de manera esencialmente simultánea, entonces el orden óptimo de administración del compuesto de la presente exposición y el agente terapéutico anticáncer y/o radiación puede ser diferente para diferentes tumores. De esta manera, en determinadas situaciones, el inhibidor de HSF de la presente exposición pueden administrarse en primer lugar, seguido de la administración del agente terapéutico anticáncer y/o la radiación, mientras que en otras situaciones el agente terapéutico anticáncer y/o la radiación pueden administrarse en primer lugar, seguido de la administración de un inhibidor de HSF de la presente exposición. Dicha administración puede repetirse durante un único protocolo de tratamiento. La determinación del orden de administración y el número de repeticiones de la administración de cada agente terapéutico durante un protocolo de tratamiento se encuentra perfectamente comprendido dentro de los conocimientos del médico clínico experto tras la evaluación de la enfermedad bajo tratamiento y el estado del paciente. Por ejemplo, el agente terapéutico anticáncer y/o la radiación pueden administrarse en primer lugar, especialmente en el caso de que presenten un efecto citotóxico, y después puede continuarse el tratamiento con la administración de un compuesto de la presente exposición, seguido, en donde e determine que resulta ventajoso, por la readministración del agente terapéutico anticáncer y/o radiación, y de esta manera sucesivamente, hasta completar el protocolo de tratamiento.

De esta manera, de acuerdo con su experiencia y conocimientos, el médico tratante puede modificar cada protocolo para la administración de un componente (agente terapéutico, es decir, un compuesto de la presente exposición, agente terapéutico anticáncer o radiación) del tratamiento según las necesidades del paciente individual, a medida que transcurra el tratamiento.

#### *Composiciones farmacéuticas*

Las composiciones farmacéuticas de la presente exposición comprenden una cantidad eficaz de un inhibidor de HSF formulado junto con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas de la presente exposición pueden administrarse por vía oral, parenteral, mediante aerosol para inhalación, vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un reservorio implantado, preferentemente mediante administración oral o mediante administración por inyección (o infusión). Las composiciones farmacéuticas de la presente exposición pueden contener cualesquiera portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales. En algunos casos, el pH de la formulación puede ajustarse con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables a fin de potenciar la estabilidad del inhibidor de HSF formulado o su forma de administración. El término parenteral tal como se utiliza en la presente memoria incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Entre las formas de administración líquidas para la administración oral se incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de un compuesto activo (es decir, un inhibidor de HSF de la exposición), las formas de administración líquidas pueden comprender diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizadores y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (por ejemplo aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán y mezclas de los mismos. Aparte de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, pueden formularse según la técnica conocida, utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden utilizarse se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Entre los excipientes solubilizadores se incluyen solventes orgánicos solubles en agua, tales como polietilenglicol-300, polietilenglicol-400, etanol, propilenglicol, glicerina, N-metil-2-pirrolidona, dimetilacetamida y dimetilsulfóxido; surfactantes no iónicos, tales como Cremophor EL, Cremophor RH40, Cremophor RH60, Solutol HS15, succinato de d- $\alpha$ -tocoferol polietilenglicol-1000, polisorbato-20, polisorbato-80, monooleato de sorbitán, poloxámero 407, Labrafil M-1944CS, Labrafil M-2125CS, Labrasol, Gellucire 44/14, Softigen 767, y ésteres de ácido monograso y digraso de PEG 300, 400 y 1750; lípidos insolubles en agua, tales como aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de piperita, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceites vegetales hidrogenados, aceite de soja hidrogenado, y triglicéridos de cadena intermedia de aceite de coco y aceite de semilla de palma, diversas ciclodextrinas, tales como  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina, hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (p. ej., Kleptose), y sulfobutiléter- $\beta$ -ciclodextrina (p. ej., Captisol) y fosfolípidos, tales como lecitina, fosfatidilcolina de soja

hidrogenada, diestearoilfosfatidilglicerol, L- $\alpha$ -dimiristoil-fosfatidilcolina y L- $\alpha$ -dimiristoil-fosfatidilglicerol. Strickley (2004) Pharm. Res. 21: 201-30.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención bacteriana o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de una composición sólida estéril (o esterilizar la composición sólida mediante radiación) que pueden disolverse o suspenderse seguidamente en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de la utilización.

Con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, con frecuencia resulta deseable retrasar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Lo anterior puede llevarse a cabo mediante la utilización de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo de solubilidad en agua pobre. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo aceite. Las formas de depósito inyectable se preparan mediante la formación de matrices de microcápsulas del compuesto en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de fármaco a polímero y de la naturaleza del polímero particular utilizado, puede controlarse la tasa de liberación de fármaco. Entre los ejemplos de otros polímeros biodegradables se incluyen (poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectable también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal preferentemente son supositorios que pueden prepararse mediante la mezcla de los compuestos de la presente exposición con excipientes o portadores no irritantes adecuados, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera supositoria que son sólidas a temperatura ambiente pero líquidas a temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Entre las formas de administración sólidas para la administración oral se incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de administración sólidas, el compuesto activo se mezcla con por lo menos un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable inerte, tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) rellenos o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) ligantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia, c) humectantes, tales como glicerol, d) agentes desintegrantes, tales como agar agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato sódico, e) agentes de retardo de la solución, tales como parafina, f) aceleradores de la absorción, tales como compuestos cuaternarios de amonio, g) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita, e i) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de administración puede comprender además agentes tamponadores.

Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden utilizarse como rellenos en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas de administración sólidas de los comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cápsulas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y también pueden ser de una composición con la que liberan el ingrediente o ingredientes activos sólo, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente de manera retardada. Entre los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden utilizarse se incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Entre las formas de administración para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente exposición se incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, aerosoles, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes o tampones necesarios según se requiera. Las formulaciones oftálmicas, gotas para los oídos, pomadas oculares, polvos y soluciones también se encuentran contempladas como comprendidas dentro del alcance de la presente exposición.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de la presente exposición, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y aerosoles pueden contener, además de compuestos de la presente exposición, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propelentes habituales.

Los parches transdérmicos pueden llevarse a cabo mediante la disolución o dispensación del compuesto en el medio apropiado. Los intensificadores de absorción también pueden incrementarse para incrementar el flujo del compuesto

a través de la piel. La tasa puede controlarse proporcionando una membrana de control de la tasa o mediante la dispersión del compuesto en una matriz o gel de polímero.

Para la administración pulmonar, una composición terapéutica de la exposición se formula y se administra en el paciente en forma partícula sólida o líquida mediante administración directa, p. ej., mediante inhalación en el sistema respiratorio. Entre las formas particuladas sólidas o líquidas del compuesto activo preparadas para la práctica de la presente exposición se incluyen partículas de tamaño respirable: es decir, partículas de un tamaño suficientemente pequeño para pasar por la boca y la laringe con la inhalación y hasta el interior de los bronquios y alvéolos de los pulmones. La administración de terapéuticos en aerosol, en particular antibióticos en aerosol, es conocida de la técnica (ver, por ejemplo la patente US n.º 5.767.068, la patente US n.º 5.508.269 y el documento n.º WO 98/43650). También se proporciona un comentario sobre la administración pulmonar de antibióticos en la patente US n.º 6.014.969.

La dosis diaria total de un inhibidor de HSF de la presente exposición administrado en un sujeto o paciente humano en dosis individuales o divididas puede ser, por ejemplo, de entre 0,01 y 50 mg/kg de peso corporal o más, habitualmente de entre 0,1 y 30 mg/kg de peso corporal. Las composiciones monodosis pueden contener tales cantidades o submúltiplos de las mismas para alcanzar la dosis diaria. En general, los regímenes de tratamiento según la presente exposición comprenden la administración en un sujeto humano que necesita dicho tratamiento, de entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 5000 mg del compuesto o compuestos de la presente exposición al día en dosis individuales o divididas. Las dosis para los animales mamíferos pueden estimarse basándose en las últimas dosis humanas.

Un inhibidor de HSF de la presente exposición puede administrarse, por ejemplo, mediante inyección, intravenosa, intraarterial, subdérmica, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea, o por vía oral, bucal, nasal, transmucosa, tópica, en una preparación oftálmica, o mediante inhalación, en forma de una dosis diaria de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. Alternativamente, las dosis (basadas en una dosis diaria de entre aproximadamente 1 mg y 5000 mg) pueden administrarse cada 4 a 12 horas, o de acuerdo con los requisitos del fármaco inhibidor particular. Los métodos en la presente memoria contemplan la administración de una cantidad eficaz de inhibidor de HSF (en una composición farmacéutica) para conseguir el efecto deseado o indicado. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente exposición se administrarán entre aproximadamente 1 y aproximadamente 6 veces al día o, alternativamente, en una infusión continua. Dicha administración puede utilizarse en forma de una terapia crónica o aguda. La cantidad de compuesto activo que puede combinarse con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables para producir una única forma de dosis variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Una composición típica contiene entre aproximadamente 5 % y aproximadamente 95 % de compuesto activo (p/p). Alternativamente, dichas preparaciones pueden contener entre aproximadamente 20 % y aproximadamente 80 % de compuesto activo. La dosis específica y regímenes de tratamiento para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del inhibidor de HSF específico utilizado, la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo, dieta, momento de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, gravedad y curso de la enfermedad, afección o síntomas, la disposición del paciente frente a la enfermedad, afección o síntomas, y el criterio del médico tratante.

## Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de inhibidores de HSF

### Abreviaturas

APCI, ionización química a presión atmosférica; Aq., acuoso; Boc, terc-butoxicarbonilo; BoczO, dicarbonato de di-*terc*-butilo; Conc., concentrado; DCE, 1,2-dicloroetano; DCM, diclorometano; DDQ, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona; DIPEA, N,N-diisopropiletilamina; DMF-DMA, dimetil-acetal de N,N-dimetilformamida; DME, 1,2-dimetoxietano; DMF, dimetilformamida; EDC, 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida; ELSD, detección evaporativa de dispersión luminica; equiv., equivalente; Et<sub>2</sub>O, éter dietílico; EtOAc, acetato de etilo; EtOH, etanol; h, horas; HATU, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; HOBt, N-hidroxibenzotriazol; HPLC, cromatografía líquida de alto rendimiento; CL-EM, cromatografía líquida-espectrometría de masas; IBCF, cloroformato de isobutilo; IPA, 2-propanol; Mel, yodometano; MeOH, metanol; min, minuto; MP-Carbonato, carbonato de trietilamonio-metilpoliestireno macroporoso; NBS, N-bromosuccinimida; NMM, N-metilmorfolina; RMN, resonancia magnética nuclear; éter pet., éter de petróleo; PTSA, ácido *p*-toluenosulfónico; Rt, tiempo de retención; Sat., saturado; Si-NH<sub>2</sub>, sílice ligado con aminopropilo; Si-Tiol, sílice 1-propanotiol; TBTU, tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; CCF, cromatografía de capa fina; TMOF, trimetilortoformato; TMS, trimetilsilano; % v/v, porcentaje volumen a volumen; % p/v, porcentaje peso a volumen.

### Métodos analíticos

CL-EM preparativa de fase inversa: CL-EM preparativa de purificación dirigida a masas utilizando una columna C-18 preparativa (Phenomenex Luna C18 (2), 100 x 21,2 mm, 5 µm).

El análisis de productos e intermediarios se llevó a cabo utilizando una HPLC-EM analítica de fase inversa utilizando los parámetros expuestos posteriormente.

#### Métodos analíticos de HPLC:

AnalpH2\_MeOH\_4min: Phenomenex Luna C18 (2) 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua + ácido fórmico al 0,1 %; B=MeOH; 45 °C; % de B: 0 min 5 %, 1 min 37,5 %, 3 min 95 %, 3,51 min 5 %, 4,5 min 5 %; 2,25 ml/min.

AnalpH9\_MeOH\_4min: Phenomenex Luna C18 (2) 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua pH9 (bicarbonato amónico 10 mmol); B=MeOH; 45 °C; % de B: 0 min 5 %, 1 min 37,5 %, 3 min 95 %, 3,51 min 5 %, 4,5 min 5 %; 2,25 ml/min.

AnalpH2\_MeOH\_QC: Phenomenex Luna C18 (2) 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua + ácido fórmico al 0,1 %; B=MeOH; 35 °C; % de B: 0 min 5 %, 7,5 min 95 %, 10 min 95 %, 10,10 min 5 %, 13,0 min 5 %; 1,5 ml/min.

AnalpH2\_MeCN\_QC: Phenomenex Luna C18 (2) 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua + ácido fórmico al 0,1 %; B=MeCN + TFA al 0,1 %; 40 °C; % de B: 0 min 5 %, 0,1 min 5 %, 8 min 95 %, 10,5 min 95 %, 10,55 min 5 %, 13,5 min 5 %; 1,5 ml/min.

AnalpH9\_MeOH\_QC: Phenomenex Luna C18 (2) 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua + ácido fórmico al 0,1 %; B=MeOH; 45 °C; % de B: 0 min 5 %, 7,5 min 95 %, 10 min 95 %, 10,10 min 5 %, 13,0 min 5 %; 1,5 ml/min.

Método\_2\_TFA\_UPLC\_2: Acquity UPLC BEH C18 1,7  $\mu$ m, 100 x 2,1 mm; 25 °C; A=agua + TFA al 0,025 %; B=acetonitrilo + TFA al 0,025 %; % de B: 0 min 30 %, 4 min 80 %, 6 min 80 %, 6,1 min 30 %; 0,4 ml/min.

Método\_4\_TFA\_UPLC\_2: Acquity UPLC BEH C18 1,7  $\mu$ m, 100 x 2,1 mm; 25 °C; A=agua + TFA al 0,025 %; B=acetonitrilo + TFA al 0,025 %; % de B: 0 min 10 %, 4 min 80 %, 6 min 80 %, 6,1 min 10 %; 0,3 ml/min.

AK4: Acquity UPLC BEH C18 1,7  $\mu$ m, 50 x 2,1 mm; A=agua + TFA al 0,025 %; B=acetonitrilo + TFA al 0,025 %; % de B: 0 min 15 %, 3 min 95 %, 4 min 95 %, 4,1 min 15 %; 0,4 ml/min.

AK4P: Acquity UPLC BEH C18 1,7  $\mu$ m, 50 x 2,1 mm; A=agua + TFA al 0,025 %; B=acetonitrilo + TFA al 0,025 %; % de B: 0 min 10 %, 3 min 80 %, 4 min 80 %, 4,1 min 10 %; 0,3 ml/min.

XTERRA: Xterra MS C18 3  $\mu$ m, 50 x 4,6 mm; A=agua + HCOOH al 0,1 %; B=acetonitrilo; % de B: 0 min 10 %, 4 min 90 %, 8 min 90 %, 8,01 min 10 %; 1 ml/min.

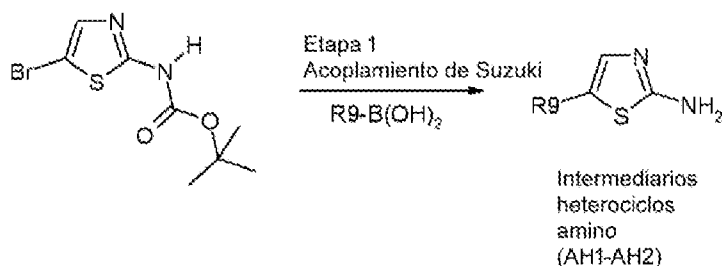
LCMS-2: Acquity UPLC BEH C18 1,7  $\mu$ m, 50 x 2,1 mm; A=agua + TFA al 0,025 %; B=acetonitrilo + TFA al 0,025 %; % de B: 0 min 20 %, 2 min 90 %, 3 min 90 %, 3,1 min 20 %; 0,4 ml/min.

### 1.1 Síntesis de intermedios

Los esquemas experimentales generales para la síntesis de inhibidores de HSF de la exposición se proporcionan en la fig. 8.

#### 1.1.1 Síntesis de heterociclos amino (AH)

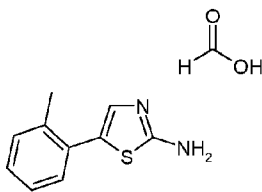
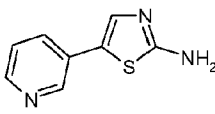
##### 1.1.1.1 Intermedios heterociclos amino AH1, AH2:



#### Etapa 1: acoplamiento de Suzuki

A un vial para microondas se añadió N-Boc-2-amino-5-bromo-tiazol (0,09 mmoles, 1 equiv.) seguido de ácido borónico (0,27 mmoles, 3 equiv.), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,005 mmoles, 0,05 equiv.), solución aq. de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 M, 0,36 mmoles, 4 equiv.) y DME/EtOH/agua 7:2:3 (1 ml). La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 2 min y se sometió a radiación en un microondas a 130 °C durante 8 min. El análisis de CL-Em mostró que el grupo Boc se había eliminado durante la reacción. La mezcla de reacción se pasó por cartuchos de Si-tiol de 1 g, eluyendo con EtOH. Se evaporó el filtrado a sequedad, se purificó mediante CL-EM preparativa y se aisló directamente como la amina para la utilización en las rutas A y D (fig. 9).

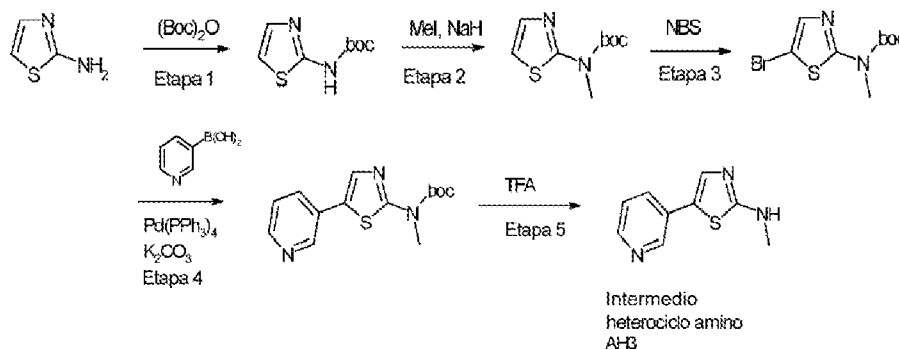
Tabla 4: Intermedios heterociclos amino (AH) preparados mediante la etapa 1

| Compuesto                                                                                                                                   | ID  | Datos analíticos:                                                                  | Rendimiento |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Sal de ácido fórmico de 5-o-tolil-tiazol-2-ilamina</p> | AH1 | AnalPH2_MeOH_4MIN; Rt 1,65 min; m/z 191 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo pálido | 22 mg, 34 % |
|  <p>5-Piridín-3-il-tiazol-2-ilamina</p>                    | AH2 | AnalPH2_MeOH_4MIN; Rt 0,62 min; m/z 178 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido   | 13 mg, 21 % |

## 1.1.1.2 Síntesis de intermedio heterociclo amino AH3:

Etapa 1: tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo: a una solución de 2-aminotiazol (30 g, 300 mmoles) en THF (300 ml) se añadió Boc<sub>2</sub>O (79 ml, 360 mmoles) y la mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el sólido precipitado se lavó con éter de petróleo, proporcionando tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo (50 g, 83 %). EM (APCI); m/z 201 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 2: metil(tiazol-2-il)carbamato de terc-butilo: a una suspensión de NaH (suspensión al 60 % en aceite mineral, 13,3 g, 330 mmoles) en DMF, enfriada a 5 °C, se añadió tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo 55 g, 275 mmoles), seguido de la adición gota a gota de yodometano (58,16 g, 412 mmoles). La mezcla de reacción se dejó que se calentase hasta la temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo triturado, se sometió a agitación y el sólido precipitado se filtró y se disolvió en éter de petróleo, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró bajo presión reducida, proporcionando metil(tiazol-2-il)carbamato de terc-butilo en forma de un sólido blanquecino (48 g, 82 %). EM (APCI); m/z 215 (MH<sup>+</sup>).

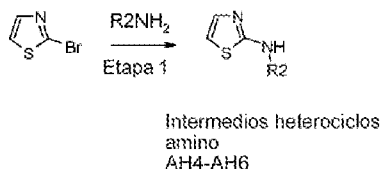


Etapa 3: 5-bromotiazol-2-il(metil)carbamato de terc-butilo: a una solución de metil(tiazol-2-il)carbamato de terc-butilo (52 g, 243 mmoles) en THF (520 ml), enfriada a 5 °C se añadió NBS (47 g, 267 mmoles) en diez partes. La mezcla de reacción se dejó bajo agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró y se trituró con éter de petróleo. Se filtraron los sólidos precipitados y se secaron, proporcionando 5-bromotiazol-2-il(metil)carbamato de terc-butilo en forma de un sólido amarillo pálido (62 g, 87 %). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) - δ 1.58 (s, 9H), δ 3.49 (s, 3H), δ 7.33 (s, 1H).

Etapa 4: metil-(5-(piridín-3-il)tiazol-2-il)carbamato de terc-butilo: a una solución de 5-bromotiazol-2-il(metil)carbamato de terc-butilo (25 g, 85,32 mmoles) y ácido 3-piridín-borónico (15,7 g, 127,98 mmoles) en DME/agua (320 ml/80 ml) bajo una atmósfera de argón se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (37,13 g, 273,03 mm) seguido de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (9,8 g, 8,53 mmoles), y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se filtró a través de una almohadilla de Celite, se concentró al vacío y se repartió entre agua y EtOAc. La capa orgánica se secó sobre NaSO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc al 30-40 %/éter de petróleo), proporcionando (5-(piridín-3-il)tiazol-2-il)carbamato de terc-butilo-metilo en forma de un sólido blanquecino (15 g, 52 %). AK4; Rt 1,68 min (98 %); m/z 292 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 5: N-Metil-5-(piridín-3-il)tiazol-2-amina (intermedio heterociclo amino AH3): una solución de (5-(piridín-3-il)tiazol-2-il)carbamato de metil-terc-butilo (21 g, 72,4 mmoles) en TFA/DCM (1:1, 157 ml) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró y se basificó con solución acuosa sat. de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró al vacío, proporcionando N-metil-5-(piridín-3-il)tiazol-2-amina en forma de un sólido blanquecino (10,7 g, 78 %). AK4P; Rt 0,86 min (100 %); m/z 192 (MH<sup>+</sup>); RMN <sup>1</sup>H (d<sub>6</sub>-DMSO) - δ2.86-2.87 (d, 3H), δ7.34-7.37 (d of d, 1H), δ7.64 (s, 1H), δ7.77-7.86 (m, 2H), δ8.36-8.37 (d, 1H), δ8.68 (s, 1H)

#### 1.1.1.3 Síntesis de intermedios heterociclos amino (AH4 a AH6)

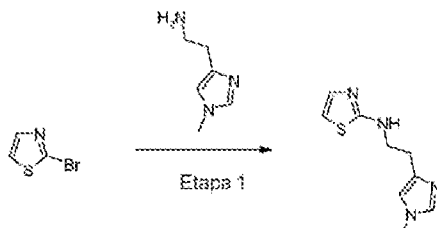


Etapa 1: A una solución de 2-bromotiazol (0,6 mmoles, 1 equiv.) en 1,4-dioxano (0,5 ml) se añadió la amina (10 equiv., 6 mmoles) y la reacción se sometió a radiación de microondas a 180 °C durante 30 min, seguido de la eliminación del solvente, y el residuo en bruto se purificó mediante CL-EM preparativa, proporcionando el producto deseado.

Tabla 5: intermedios heterociclos amino AH4-6

| Compuesto                                       | ID  | Datos analíticos:                                                                  | Rendimiento  |
|-------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <p>(2-Piridín-4-il-etil)tiazol-2-il-amina</p>   | AH4 | AnalpH9_MeOH_4 min; Rt 2,09 min (90 %); m/z 206 (MH <sup>+</sup> ); cristal verde  | 65 mg (52 %) |
| <p>(2-Morfolín-4-il-etil)etiazol-2-il-amina</p> | AH5 | AnalpH9_MeOH_4min; Rt 2,14 min (>95 %); m/z 214 (MH <sup>+</sup> ); cristal dorado | 42 mg (32 %) |
| <p>(2-Piridín-2-il-etil)tiazol-2-il-amina</p>   | AH6 | AnalpH9_MeOH_4min; Rt 2,08 min (90 %); m/z 206 (MH <sup>+</sup> ); cristal naranja | 38 mg (30 %) |

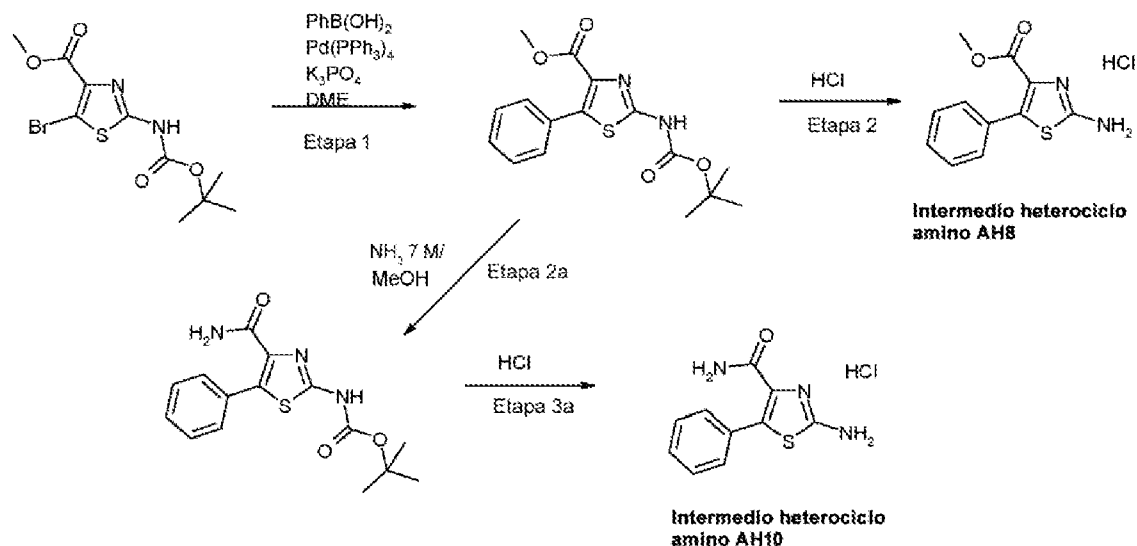
#### 1.1.1.4 Síntesis de intermedio heterociclo amino AH7



Etapa 1: [2-(1-Metil-1H-imidazol-4-il)-etil]tiazol-2-il-amina - AH7. A una solución de 2-bromotiazol (400 mg, 1 equiv., 2,43 mmoles) en IPA (5 ml) se añadió 1-metilhistamina (610 mg, 2 equiv., 4,87 mmoles) y la reacción se calentó a 90 °C durante 96 h, seguido de la eliminación del solvente al vacío, y el residuo en bruto se purificó mediante CL-EM

preparativa, proporcionando el compuesto del título en forma de un cristal de color dorado (120 mg, 23 %). AnalPH2\_MeOH\_4min; Rt 0,27 min (>95 %); m/z 209 (MH).

#### 1.1.1.5 Síntesis de intermedios heterociclos amino AH8, AH10



Etapa 1: metil-éster de ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-5-fenil-tiazol-4-carboxílico. A una solución de metil-éster de ácido 5-bromo-2-*terc*-butoxicarbonilamino-tiazol-4-carboxílico (250 mg, 1 equiv., 0,74 mmoles) en DME (2,5 ml) se añadió ácido fenilborónico (135 mg, 1,5 equiv., 1,11 mmoles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (42 mg, 0,05 equiv., 0,037 mmoles) y la mezcla de reacción se desgasificó durante 2 min bajo nitrógeno. Se añadió fosfato potásico tribásico (sol. aq. 2 M, 1,48 ml, 4 equiv., 2,96 mmoles) y la mezcla de reacción se desgasificó durante 2 min bajo nitrógeno, seguido del sometimiento de la reacción a radiación de microondas a 90 °C durante 10 min. La mezcla de reacción en bruto se diluyó con DCM (5 ml) y agua (5 ml) y los orgánicos obtenidos mediante filtración a través de un cartucho de separación de fases, seguido de la eliminación del solvente bajo vacío, y el residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de columna de sílice con EtOAc al 0-30 %/isohexano como eluyente, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (236 mg, 47 %). AnalPH2\_MeOH\_4 min; Rt 3,15 min (>95 %); m/z 335 (MH).

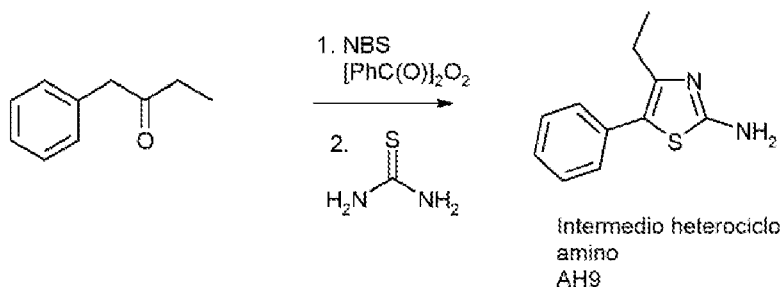
Etapa 2: metil-éster de ácido 2-amino-5-fenil-tiazol-4-carboxílico (AH8). A una solución de metil-éster de ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-5-fenil-tiazol-4-carboxílico (50 mg, 1 equiv., 0,15 mmoles) en DCM (0,5 ml) a 0 °C se añadió HCl 4 M/dioxano (0,5 ml) y la reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 h, seguido de la eliminación del solvente bajo vacío, y el residuo en bruto se sometió a destilación azeotrópica con tolueno (2x10 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un cristal de color dorado (38 mg, 94 %). AnalPH2\_MeOH\_4 min; Rt 2,22 min (>95%); m/z 235 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 2a: *terc*-butil-éster de ácido (4-carbamoyl-5-fenil-tiazol-2-il)-carbámico. Una solución de metil-éster de ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-5-fenil-tiazol-4-carboxílico (480 mg, 1 equiv., 1,43 mmoles) en amoníaco (7 M en MeOH) (30 ml) se calentó a 110 °C durante 16 h en un tubo sellado, seguido de la eliminación del solvente, y el residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de columna de sílice con EtOAc al 0-50 %/isohexano como eluyente, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (260 mg, 56 %). AnalPH2\_MeOH\_4 min; Rt 2,95 min (>95%); m/z 320 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 3a: amida de ácido 2-amino-5-fenil-tiazol-4-carboxílico (AH10).

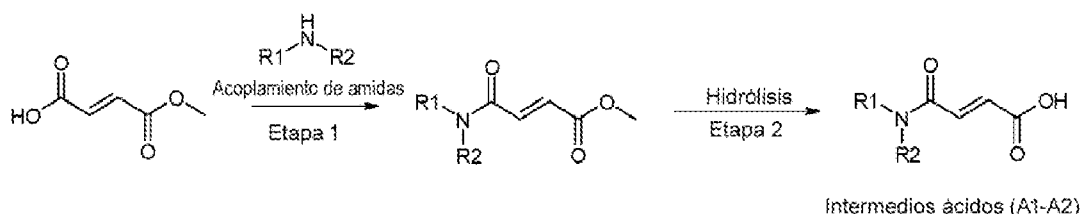
El procedimiento seguido fue el mismo que en la etapa 2 (anteriormente). Esto proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido blanco (60 mg, 95%). AnalPH2\_MeOH\_4 min; Rt 1,75 min (>95%); m/z 220 (MH<sup>+</sup>).

## 1.1.1.6 Síntesis de intermedio heterociclo amino AH9



Etapa 1: 4-Etil-5-fenil-tiazol-2-ilamina (AH9). A una solución de 4-fenil-2-butanona (500 mg, 1 equiv., 3,37 mmoles) en DCE (20 ml) se añadió NBS (719 mg, 1,2 equiv., 4,04 mmoles) y peróxido de benzoilo (11 mg, 0,013 equiv., 0,045 mmoles) y la reacción se calentó a 80 °C durante 2 h, seguido del enfriamiento de la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluyó con DCM, se lavó con solución acuosa de bisulfato sódico (al 10 % p/v, 20 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (20 ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se eliminó el solvente al vacío. El residuo resultante se disolvió en EtOH (20 ml), seguido de la adición de tiourea (739 mg, 2,8 equiv., 9,71 mmoles) y la reacción se calentó a 80 °C durante 2 h, seguido de la adición de solución acuosa sat. de bicarbonato sódico (10 ml) y el precipitado se recogió mediante filtración y se secó al vacío, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido crema (688 mg, 10 %). AnalPH2\_MeOH\_4 min; Rt 1,63 min (>95 %); m/z 205 (MH<sup>+</sup>).

## 1.1.2 Síntesis de intermedios ácidos (A)

*Procedimiento habitual:*

Etapa 1: acoplamiento de amidas. Igual que la ruta A, excepto en que se utilizó el compuesto en bruto en la etapa siguiente.

Etapa 2: hidrólisis del éster: a una solución del éster en THF (~0,1 M) se añadió solución acuosa 1 M de LiOH (5 equiv.). La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente, durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad, se redisolvió en agua y se acidificó a pH 2 con HCl 0,1 M o 0,5 M. Se extrajo el producto en EtOAc. La capa orgánica se lavó con solución hipersalina, se secó con MgSO<sub>4</sub> y se evaporó a sequedad, proporcionando el intermedio ácido (A1-A2), que se utilizó directamente en la ruta E.

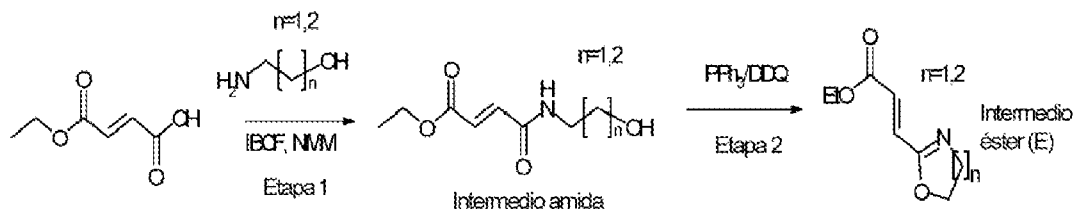
Tabla 6: intermedios ácidos (A)

| Compuesto                                                  | ID | Datos analíticos:                                                                  | Rendimiento  |
|------------------------------------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <p>Ácido (E)-3-(tiazol-2-ilcarbamoil)-acrílico</p>         | A1 | AnalPH2_MeOH_4 min; Rt 1,86 min; m/z 199 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo       | 68 mg, 82 %  |
| <p>Ácido (E)-3-(4-metil-tiazol-2-ilcarbamoil)-acrílico</p> | A2 | AnalPH2_MeOH_4MIN; Rt 2,18 min; m/z 213 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo pálido | 127 mg, 82 % |

## 1.1.3 Síntesis de intermedios éster (E)

Etapa 1: Formación de amidas. A una solución de fumarato de etilo hidrogenado (1 equiv.) en THF (1,16 M) enfriada

a -40 °C se añadió cloroformato de isobutilo (1,5 equiv.) gota a gota, seguido de NMM (2 equiv.). La mezcla de reacción se sometió a agitación durante 30 min. Se añadió amina (2 equiv.) a la mezcla de reacción anteriormente indicada y se sometió a agitación durante 1 h a -40 °C. Tras completar la reacción (monitorización mediante CCF), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc 1:1), proporcionando la amida correspondiente.



Etapa 2: ciclización del intermedio éster (E). A una solución bajo agitación de trifetilfosfina (1,5 equiv.) en DCM (0,15 M) a temperatura ambiente se añadió DDQ (1,5 equiv.). La mezcla de reacción se sometió a agitación durante 10 min. La solución premezclada del intermedio amida (1 equiv.) en DCM (2 M) se añadió lentamente a temperatura ambiente durante un periodo de 15 min y se sometió a agitación durante 20 min. Tras completarse la reacción (monitorización mediante CCF), la mezcla de reacción se diluyó con solución acuosa al 5 % p/v de NaOH y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc 1:1), proporcionando el intermediario éster (E).

Tabla 7: intermedios éster (E)

| Compuesto                                                                    | ID | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                       | Rendimiento  |
|------------------------------------------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5,6-dihidro-4H-[1,3] oxazín-2-il)-acrílico</p> | E1 | EM (APCI); m/z 184 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> DMSO) - δ1,21-1,24 (t, 3H), δ1,79-1,84 (m, 2H), δ3,44-3,47 (t, 2H), δ4,14-4,19 (q, 2H), δ4,22-4,24 (t, 2H), δ6,33-6,37 (d, 1H, J = 16,4 Hz), δ6,64-6,68 (d, 1H, J = 16,4 Hz). | 1,5 g, 34 %  |
| <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4,5-dihidro-oxazol-2-il)-acrílico</p>          | E2 | EM (APCI); m/z 170 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> ) - δ1,30-1,34 (t, 3H), δ3,99-4,05 (t, 2H), δ4,23-4,28 (q, 2H), δ4,33-4,38 (t, 2H), δ6,56-6,60 (d, 1H, J = 16,4 Hz), δ7,09-7,13 (d, 1H, J = 16,4 Hz).                      | 750 mg, 34 % |

## 1.2 Procedimientos generales: rutas A a F

### 1.2.1 Ruta A: procedimiento general para la síntesis de amidas

Al ácido (1 a 1,2 equiv.) y TBTU (1 a 1,2 equiv.) en DCM anhidro/DMF (2:1, 0,3 M) se añadió DIPEA/DCM anhidro (1 a 1,2 equiv., 0,3 M). La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 50 min. En este momento, se añadió amina/DCM anhidro (1 equiv., 0,14 M) y la mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Al recipiente de reacción se añadió anhídrido tetrafluoroftálico (0,8 a 1 equiv.) en DMF anhidro (0,48 M) y se dejó bajo agitación durante 2 a 3 h para secuestrar el ácido no reaccionado y el TBTU. Después de este tiempo, se añadieron 2-3 equiv. de MP-carbonato y la mezcla de reacción se sometió a agitación durante 6 a 12 h. La mezcla de reacción se aplicó a un cartucho precondicionado de Si-NH<sub>2</sub> (1 o 2 g) y se eluyó con DMF (1x volumen de columna) y MeOH (1x volumen de columna). La evaporación de los eluyentes rindió la amida deseada. En algunos casos, se requirió CL-EM preparativa para la purificación.

### 1.2.2 Ruta B: procedimiento general para la síntesis de amidas

A una solución del ácido (1,2 a 1,5 equiv.) en DCM (0,28 M) se añadió TBTU (1,2 a 1,5 equiv.) y DIPEA (1,2 a 1,5 equiv.). La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 10 min, seguido de la adición de la amina (1 equiv.) y la reacción se sometió a agitación durante 16 h a temperatura ambiente, seguido de la dilución de la reacción con agua (2 ml) y DCM (2 ml), y la fase orgánica se recogió con un cartucho de separación de fases. Se

eliminó el solvente al vacío y el residuo en bruto se purificó mediante CL-EM preparativa, proporcionando el compuesto deseado.

### 1.2.3 Ruta C: procedimiento general para la síntesis de amidas

A una solución de la amina (1 equiv.) en tolueno o DCE (0,4 M) se añadió trimetil-aluminio (2 M en hexanos, 1 equiv.) y la reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 30 min. A lo anterior siguió la adición de una solución del éster (1 equiv.) en tolueno o DCE (0,4 M) y la reacción se calentó a 90 °C durante 4 h, seguido del enfriamiento de la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente, dilución con agua ((20 ml) y extracción con EtOAc (3x20 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina (30 ml), se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el solvente se eliminó al vacío. El residuo en bruto se trituró con DCM/hexano y se secó. En algunos casos, el compuesto en bruto requirió la purificación mediante CL-EM preparativa, proporcionando el compuesto deseado.

### 1.2.4 Ruta D: procedimiento general para la síntesis de amidas mediante cloruro de ácido

Etapla 1: A una solución del ácido (1 equiv.) en DCM anhidro (0,46 M) y una cantidad catalítica de DMF anhidro bajo una atmósfera de nitrógeno se añadió una solución 2 M de cloruro de oxalilo (1,1 equiv.) en DCM anhidro. La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 2 h. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y se redisolvió en DCM anhidro para el uso directo en la etapa 2, a continuación.

Etapla 2: A la amina (0,5 a 0,67 equiv.) se añadió una solución de piridina en DCM anhidro (3,7 a 5,15 M, 2,8 equiv.) seguido de la adición de una solución del cloruro ácido en DCM anhidro (0,3 a 0,37 M, 1 equiv.), sintetizada en la etapa 1, y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno y se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche\*. A la mezcla de reacción se añadió DCM (3 ml), seguido de agua (4 ml). La mezcla se sometió a agitación y se pasó por un cartucho de separación de fases. La capa de DCM se lavó adicionalmente con agua (4 ml). Se agruparon las capas orgánicas, se evaporaron a sequedad y el compuesto se purificó mediante CL-EM preparativa.

\* En algunos casos, no se llevó a cabo ningún tratamiento final; la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y se purificó mediante CL-EM preparativa.

### 1.2.5 Ruta E: acoplamiento de amidas.

Igual que la ruta A, excepto en que se utilizó amina en exceso (1,5 a 2 equiv.) y se utilizó 1 equiv. de todos los demás reactivos. En los casos en que la amina era una sal, la amina se basificó mediante la adición de DIPEA antes de la adición a la mezcla de reacción. En algunos casos, los compuestos requirieron la purificación adicional mediante CL-EM preparativa.

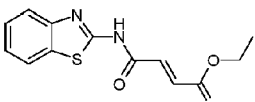
### 1.2.6 Ruta F: síntesis de éster

A un vial para microondas se añadió una solución del ácido en el alcohol (0,26 M, 1 equiv.) y ácido sulfúrico conc. (0,94 equiv.). Se selló el vial y se calentó en un microondas a 100 °C durante 2 min. Se evaporó la mezcla de reacción a sequedad y se purificó mediante CL-EM preparativa.

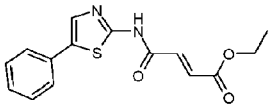
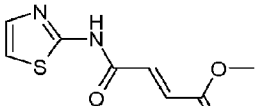
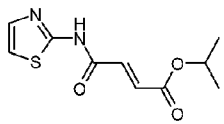
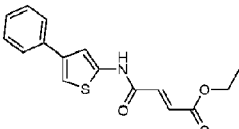
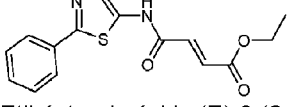
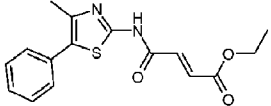
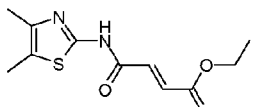
## 1.3 Compuestos finales: rutas A a F

### 1.3.1 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta A

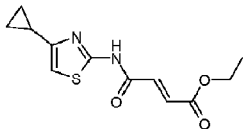
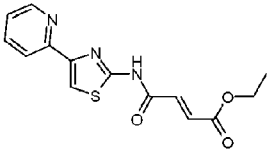
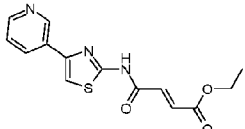
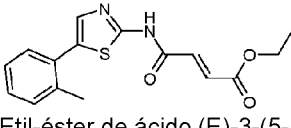
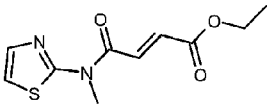
Tabla 8: compuestos finales sintetizados mediante la ruta A

| Compuesto                                                                                                                                                 | I <sub>HSF</sub> | Int. * | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Rendimiento |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(benzotiazol-2-ilcarbamóil)-acrílico</p> | 010              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,30 min (98 %); m/z 277 (MH <sup>+</sup> );<br>RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,25-1,29 (t, 3H), δ4,21-4,26 (q, 2H), δ6,86-6,89 (d, 1H, J = 15 Hz), δ7,28-7,32 (d, 1H, J = 15 Hz), δ7,32-7,36 (t of d, 1H), δ7,44-7,49 (t of d, 1H), δ7,78-7,80 (d of t, 1H), δ8,00-8,03 (d of t, 1H) δ12,92 (s, br, 1H); sólido amarillo pálido | 18 mg, 88 % |

(continuación)

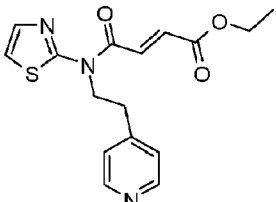
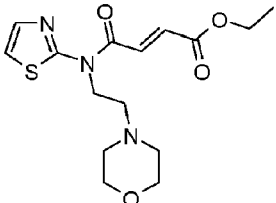
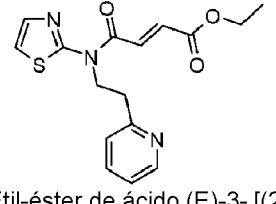
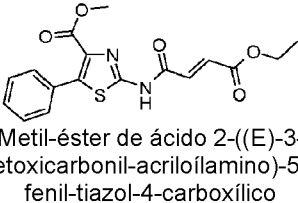
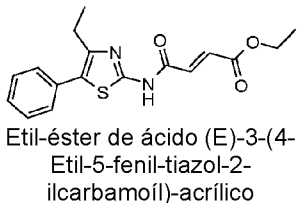
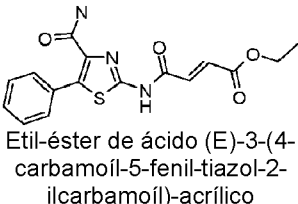
| Compuesto                                                                                                                                                            | I <sub>HSF</sub> | Int. * | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Rendimiento   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5-fenil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>           | 014              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,60 min (89 %); m/z 303 (MH); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                                                            | 35,5 mg, 99 % |
|  <p>Metil-éster de ácido (E)-3-(tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>                  | 027              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,45 min (99 %); m/z 241 (MH); sólido blanco                                                                                                                                                                                                                                                              | 9 mg, 7 %     |
|  <p>Isopropil-éster de ácido (E)-3-(tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>              | 028              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,54 min (97 %); m/z 213 (MH); sólido naranja                                                                                                                                                                                                                                                             | 24 mg, 56 %   |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-fenil-tiofén-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>         | 043              |        | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 7,38 min (99 %); m/z 302 (MH); sólido amarillo oscuro                                                                                                                                                                                                                                                     | 4,1 mg, 8 %   |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(2-fenil-tiazol-5-ilcarbamoíl)-acrílico</p>         | 045              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,34 min (99 %); m/z 303 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ 1,26-1,29 (t, 3H), δ 4,2 - 4,26 (q, 2H), δ 6,76-6,80 (d, 1H, J = 15 Hz), δ 7,14-7,18 (d, 1H, J = 15 Hz), δ 7,42 - 7,50 (m, 3H), δ 7,71 (s, 1H), δ 7,89-7,91 (d of t, 2H), δ 12,21 (s, br, 1H); sólido amarillo | 11,6 mg, 21 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-metil-5-fenil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 051              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,75 min (87 %); m/z 317 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                                              | 45 mg, 79 %   |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4,5-dimetil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>     | 052              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,90 min (93%); m/z 255 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                                               | 36 mg, 78 %   |

(continuación)

| Compuesto                                                                                                                                                           | I <sub>HSF</sub> | Int. * | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Rendimiento |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-ciclopropil-tiazol-2-ilcarbamóil)-acrílico</p>    | 053              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,05 min (89 %); m/z 267 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo/marrón                                                                                                                                                                                                                                                                      | 38 mg, 79 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-piridín-2-il-tiazol-2-il carbamóil)-acrílico</p>  | 054              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,18 min (96 %); m/z 304 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,26-1,29 (t, 3H), δ4,21-4,26 (q, 2H), δ6,84 - 6,88 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,28-7,31 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,34-7,38 (dq, 1H), δ7,89-7,97 (m, 3H), δ8,61-8,63 (d of q, 1H), δ12,95 (s, br, 1H); sólido marrón/amarillo                        | 40 mg, 74 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-piridín-3-il-tiazol-2-il carbamóil)-acrílico</p> | 055              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,02 min (86%); m/z 304 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                                                                              | 15 mg, 27%  |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5-o-tolil-tiazol-2-ilcarbamóil)-acrílico</p>      | 059              | AH1    | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 7,54 min (89 %); m/z 317 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,32-1,35 (t, 3H), δ2,47 (s, 3H), δ4,27-4,32 (q, 2H), δ6,88-6,92 (d, 1H, J = 15,6 Hz), δ7,33-7,37 (d, 1H, J = 15,6 Hz), δ7,34-7,38 (m, 2H), δ7,40-7,42 (d of m, 1H), δ7,46-7,48 (d of d, 1H), δ7,71 (s, 1H), δ12,88 (s, br, 1H); sólido amarillo | 19 mg, 66 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(metil-tiazol-2-il-carbamóil)-acrílico</p>         | 070              |        | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,32 min (92 %); m/z 241 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,26-1,3 (t, 3H), δ3,78 (s, 3H), δ4,22-4,27 (q, 2H), δ6,78-6,82 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,38-7,39 (d, 1H), δ7,60-7,61 (d, 1H), δ7,62-7,66 (d, 1H, J = 15,4 Hz); sólido amarillo                                                                   | 36 mg, 75 % |
| * Donde la columna de intermedio se deja en blanco, el material o materiales de partida se encontraban disponibles comercialmente.                                  |                  |        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             |

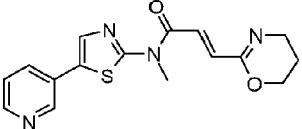
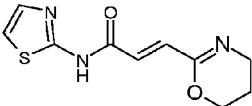
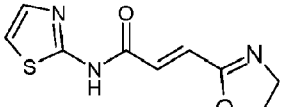
### 1.3.2 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta B

Tabla 9: Compuestos finales sintetizados mediante la ruta B

| Compuesto                                                                                                                                                                           | I <sub>HSF</sub> | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Rendimiento    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-[(2-piridín-4-il-etil)-tiazol-2-il-carbamoíl]-acrílico</p>           | 099              | AH4  | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 5,75 min (90 %); m/z 332 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,26 (t, 3H), δ3,03-3,07 (t, 2H), δ4,19-4,24 (q, 2H), δ4,57-4,60 (t, 2H), δ6,54-6,58 (d, 1H, J = 15,2 Hz), δ7,17-7,18 (d, 2H), δ7,34-7,42 (d, 1H, J = 15,2 Hz), δ7,43-7,44 (d, 1H), δ7,66-7,67 (d, 1H), δ8,43-8,44 (d of d, 2H); sólido beige | 5,2 mg, 5 %    |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-[(2-morfolín-4-il-etil)-tiazol-2-il-carbamoíl]-acrílico</p>          | 101              | AH5  | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 4,6 min (92 %); m/z 340 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,06-1,09 (t, 3H), δ2,19-2,22 (t, 4H), δ2,38-2,41 (t, 2H), δ3,28-3,30 (t, 4H), δ4,02-4,07 (q, 2H), δ4,21-4,23 (t, 2H), δ6,61-6,65 (d, 1H, J = 15 Hz), δ7,2-7,21 (d, 1H), δ7,41-7,42 (d, 1H), δ7,51-7,55 (d, 1H, J = 15 Hz); sólido crema       | 30,6 mg, 45 %  |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-[(2-piridín-2-il-etil)-tiazol-2-il-carbamoíl]-acrílico</p>         | 112              | AH6  | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,16 min (89 %); m/z 332 (MH <sup>+</sup> ); sólido naranja                                                                                                                                                                                                                                                                             | 2,4 mg, 4 %    |
|  <p>Metil-éster de ácido 2-((E)-3-etoxicarbonil-acrioloílamino)-5-fenil-tiazol-4-carboxílico</p> | 105              | AH8  | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,43min (>95 %); m/z 361 (MH <sup>+</sup> ); sólido dorado pálido                                                                                                                                                                                                                                                                       | 3,5 mg, 6 %    |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-Etil-5-fenil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>                 | 107              | AH9  | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,79 min (>95 %); m/z 331 (MH <sup>+</sup> ); sólido limón pálido                                                                                                                                                                                                                                                                       | 11,2 mg, 3,5 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-carbamoíl-5-fenil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>            | 109              | AH10 | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,9 min (>95 %); m/z 346 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,39-1,43 (t, 3H), δ4,35-4,40 (q, 2H), δ6,97-7,01 (d, 1H, J = 15,5 Hz), δ7,40-7,44 (d, 1H, J = 15,5 Hz), δ7,52-7,59 (m, 3H), δ7,65 (s, br, 1H), δ7,69-7,71 (d of t, 2H), δ13,07 (s, br, 2H); sólido amarillo                                  | 6,3 mg, 10 %   |

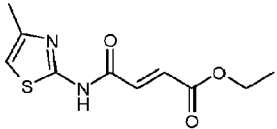
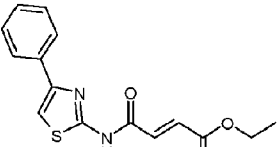
## 1.3.3 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta C

Tabla 10: Compuestos finales sintetizados mediante la ruta C

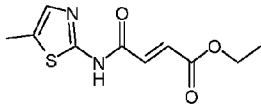
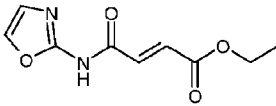
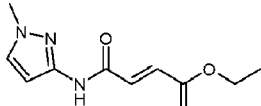
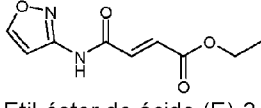
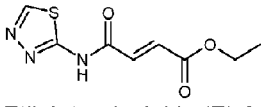
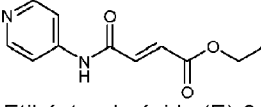
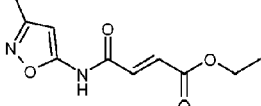
| Compuesto                                                                                                                                                                          | I <sub>HSF</sub> | Int.    | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Rendimiento    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
|  <p>(E)-3-(5,6-Dihidro-4H-[1,3]oxazín-2-il)-N-metil-N-(5-piridín-3-il-tiazol-2-il)-acrilamida</p> | 115              | AH3, E1 | AnalpH9_MeOH_QC; Rt 7,19 min (99,2); m/z 329 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,83-1,89 (m, 2H), δ3,48-3,51 (t, 2H), δ3,79 (s, 3H), δ4,28-4,30 (t, 2H), δ6,77-6,80 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,23-7,27 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,44-7,48 (q of d, 1H), δ8,04-8,07 (d of t, 1H), δ8,13 (s, 1H), δ8,51-8,52 (d of d, 1H), δ8,89-8,90 (d, 1H); sólido crema | 259 mg, 21,5 % |
|  <p>(E)-3-(5,6-Dihidro-4H-[1,3]oxazín-2-il)-N-tiazol-2-il-acrilamida</p>                          | 090              | E1      | Método_4_TFA_UPLC_2; Rt 1,94 min (96 %); m/z 238 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> D) - δ2,29-2,31 (t, 2H), δ3,79-3,82 (t, 2H), δ4,78-4,80 (t, 2H), δ7,17-7,21 (d, 1H, J = 15,6 Hz), δ7,22-7,23 (d, 1H), δ7,36-7,40 (d, 1H, J = 15,6 Hz), δ7,53-7,54 (d, 1H); p.f. - 205-208 °C; sólido marrón pálido                                          | 38 mg, 9 %     |
|  <p>(E)-3-(4,5-Dihidro-oxazol-2-il)-N-tiazol-2-il-acrilamida</p>                                | 092              | E2      | Método_4_TFA_UPLC_2; Rt 2,30 min (88 %); m/z 224 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> D) - δ4,06-4,11 (t, 2H), δ4,53-4,58 (t, 2H), δ6,94-6,98 (d, 1H, J = 16 Hz), δ7,19-7,20 (d, 1H), δ7,32-7,36 (d, 1H, J = 16 Hz), δ7,50-7,51 (d, 1H); p.f. - 221-226 °C; sólido amarillo                                                                       | 38 mg, 9 %     |

## 1.3.4 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta D

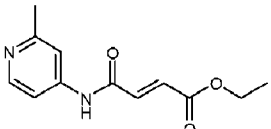
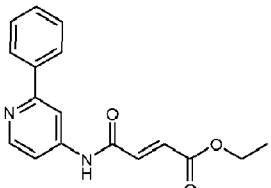
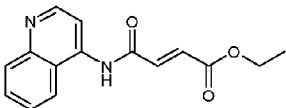
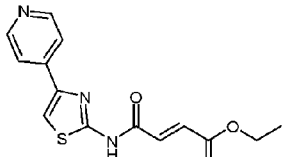
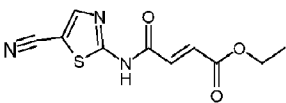
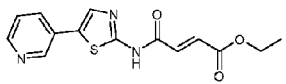
Tabla 11: Compuestos finales sintetizados mediante la ruta D

| Compuesto                                                                                                                                                    | ID  | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                    | Rendimiento |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-metil-tiazol-2-ilcarbamóil)-acrílico</p> | 011 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,51 min (95 %); m/z 241 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,25-1,29 (t, 3H), δ2,29 (d, 3H), δ4,20-4,25 (q, 2H), δ6,79-6,83 (d, 1H, J = 15 Hz), δ6,87 (d, 1H), δ7,21-7,25 (d, 1H, J = 15 Hz), δ12,61 (s, br, 1H); sólido amarillo | 31 mg, 64 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-fenil-tiazol-2-ilcarbamóil)-acrílico</p> | 012 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 8,48 min (100 %); m/z 303 (MH <sup>+</sup> ); sólido pardo                                                                                                                                                                                                       | 24 mg, 40 % |

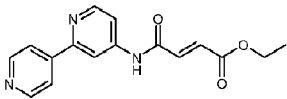
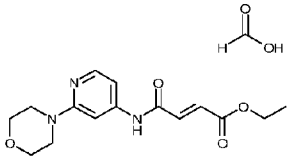
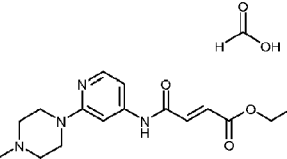
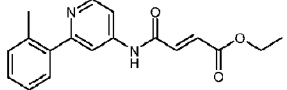
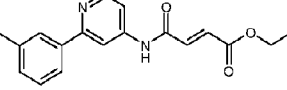
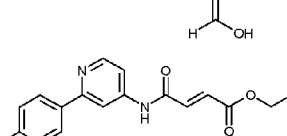
(continuación)

| Compuesto                                                                                                                                                      | ID  | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Rendimiento |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5-metil-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>     | 013 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,58 min (100%); m/z 241 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                   | 21 mg, 44 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(oxazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>             | 015 |      | AnalpH9_MeOH_QC; Rt 5,27 min (88 %); m/z 211 (MH <sup>+</sup> ); sólido crema                                                                                                                                                                                                                      | 21 mg, 51 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(1-metil-1H-pirazol-3-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 016 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,30 min (100 %); m/z 224 (MH <sup>+</sup> ); sólido crema                                                                                                                                                                                                                     | 32 mg, 73 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(isoxazol-3-ilcarbamoíl)-acrílico</p>         | 017 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,48 min (100 %); m/z 211 (MH <sup>+</sup> ); sólido crema RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ1,25-1,28 (t, 3H), δ4,2 - 4,25 (q, 2H), δ 6,76-6,80 (d, 1H, J = 15,7 Hz), δ 7,0-7,01 (d, 1H) δ7,20-7,24 (d, 1H, J = 15,7 Hz), δ8,85 - 8,86 (d, 1H), δ11,63 (s, br, 1H) | 33 mg, 79 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-([1,3,4]tiadiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 018 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,50 min (100 %); m/z 228 (MH <sup>+</sup> ); sólido pardo                                                                                                                                                                                                                     | 13 mg, 29 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>          | 020 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 4,16 min (98 %); m/z 221 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo pálido                                                                                                                                                                                                            | 7 mg, 15 %  |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(3-metil-isoxazol-5-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 046 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 5,52 min (100 %); m/z 225 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,24-1,28 (t, 3H), δ2,20 (s, 3H), δ4,19-4,24 (q, 2H), δ6,27 (s, 1H), δ6,76-6,80 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,13-7,17 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ12,15 (s, br, 1H); sólido marrón pálido       | 28 mg, 62 % |

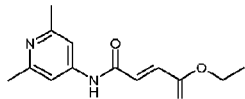
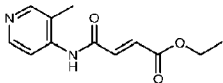
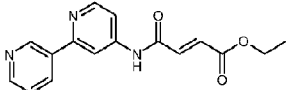
(continuación)

| Compuesto                                                                                                                                                           | ID  | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Rendimiento |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(2-metil-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>         | 048 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 5,30 min (100 %); m/z 235 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 14 mg, 30 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(2-fenil-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>         | 049 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 6,82 min (97%); m/z 297 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 37 mg, 63 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(quinolín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>               | 050 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 5,91 min (86%); m/z 271 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 25 mg, 46 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(4-piridín-4-il-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 056 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 6,02 min (87 %); m/z 304 (MH <sup>+</sup> ); sólido naranja pálido                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 10 mg, 16 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5-ciano-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p>        | 057 |      | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 4,27 min (99 %); m/z 252 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,33-1,37 (t, 3H), δ4,29-4,34 (q, 2H), δ6,95-6,99 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,30-7,34 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ8,54 (s, 1H), δ13,57 (s, br, 1H); sólido marrón pálido                                                                                                      | 21 mg, 42 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(5-piridín-3-il-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico</p> | 058 | AH2  | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 4,28 min (99 %); m/z 304 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (DMSO-d <sub>6</sub> ): δ12,91 (br s, 1H), 8,89 (dd, J = 2,3, 0,8 Hz, 1H), 8,51 (dd, J = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,07-8,04 (m, 1H), 7,48-7,44 (m, 1H), 7,28 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,23 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,2 Hz, 3H); sólido marrón pálido | 9 mg, 43 %  |

(continuación)

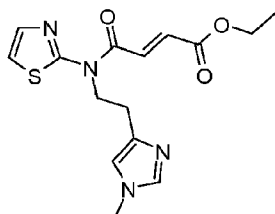
| Compuesto                                                                                                                                                                                                | ID  | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Rendimiento |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-([2,4']niridín-4-il carbamoíl)-acrílico</p>                                               | 076 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,56 min (100 %); m/z 298 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,26-1,30 (t, 3H), δ4,21-4,26 (q, 2H), δ6,78-6,81 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,20-7,24 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,67-7,69 (d of d, 1H), δ7,93-7,95 (d of d, 2H), 8,31 (d, 1H), δ8,65-8,67 (d, 1H), δ8,72-8,73 (d of d, 2H), δ11,14 (s, br, 1H); sólido beige                                        | 21 mg, 36 % |
|  <p>Sal de ácido fórmico de etil-éster de ácido (E)-3-(2-morfolín-4-il-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>              | 077 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 5,08 min (100 %); m/z 306 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,25-1,29 (t, 3H), δ3,37-3,39 (m, 4H), δ3,69-3,71 (m, 4H) δ4,20-4,25 (q, 2H), δ6,70-6,74 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ6,87-6,89 (d of d, 1H) δ7,16-7,20 (d, 2H, J = 15,4 Hz), δ8,05-8,06 (d, 1H), δ8,16 (s, 1H), δ10,71 (s, br, 1H), δ12,83 (s, br, 1H); sólido amarillo pálido                     | 42 mg, 60 % |
|  <p>Sal de ácido fórmico de etil-éster de ácido (E)-3-[2-(4-metil-piperazín-1-il)-piridín-4-ilcarbamoíl]-acrílico</p> | 078 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 3,88 min (95%); m/z 319 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 29 mg, 40 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(2-o-tolil-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>                                          | 079 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,78 min (97%); m/z 311 (MH <sup>+</sup> ); sólido pardo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 40 mg, 65 % |
|  <p>Etil-éster de ácido (E)-3-(2-m-tolil-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>                                          | 080 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,43 min (100 %); m/z 311 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 46 mg, 74 % |
|  <p>Sal de ácido fórmico de etil-éster de ácido (E)-3-(2-p-tolil-piridín-4-ilcarbamoíl)-acrílico</p>                  | 081 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,23 min (99 %); m/z 311 (MH <sup>+</sup> ); sólido pardo RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) δ1,26-1,30 (t, 3H), δ2,37 (s, 3H), δ4,21-4,26 (q, 2H), δ6,76-6,80 (d, 1H, J = 15,6 Hz), δ7,20-7,24 (d, 1H, J = 15,4 Hz), δ7,31-7,33 (d, 2H), δ7,53-7,55 (d of d, 1H), δ7,88-7,9 (d, 2H), δ8,15 (s, 1H), δ8,16-8,17 (d, 1H), δ8,55-8,56 (d, 1H), δ10,99 (s, 1H), δ12,95 (s, br, 1H) | 39 mg, 55 % |

(continuación)

| Compuesto                                                                                                                                                   | ID  | Int. | Datos analíticos:                                                                   | Rendimiento |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <br>Etil-éster de ácido (E)-3-(2,6-dimetil-piridín-4-ilcarbamóil)-acrílico | 082 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 4,53 min (88%); m/z 249 (MH <sup>+</sup> ); sólido amarillo     | 9 mg, 18%   |
| <br>Etil-éster de ácido (E)-3-(3-metil-piridín-4-ilcarbamóil)-acrílico     | 083 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 4,17 min (88 %); m/z 235 (MH <sup>+</sup> ); sólido blanquecino | 15 mg, 32 % |
| <br>Etil-éster de ácido (E)-3-([2,3']bipiridinil-4-ilcarbamóil)-acrílico   | 086 |      | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,92 min (100 %); m/z 298 (MH <sup>+</sup> ); sólido pardo      | 28 mg, 47%  |
| * Donde la columna de intermedio se deja en blanco, el material o materiales de partida se encontraban disponibles comercialmente.                          |     |      |                                                                                     |             |

Síntesis de compuesto final 108 mediante el intermedio heterociclo amino AH7:

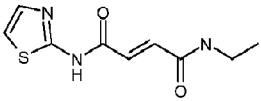
Etil-éster de ácido (E)-3-[[2-(1-metil-1H-imidazol-4-il)-etil]-tiazol-2-il-carbamóil]-acrílico



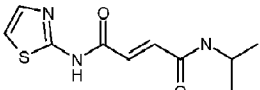
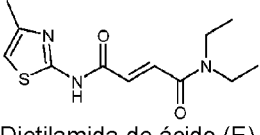
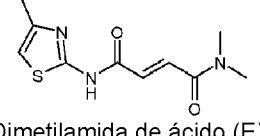
A una solución de [2-(1-metil-1H-imidazol-4-il)-etil]-2-il-amina (intermedio tiazol AH7), (120 mg, 1 equiv., 0,57 mmoles) en DCM (1 ml) se añadió cloruro de etilfumarioílo (70  $\mu$ l, 1,1 equiv., 0,63 mmoles), gota a gota, y trietilamina (204  $\mu$ l, 3 equiv., 1,72 mmoles), y la reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 h, seguido de la eliminación del solvente, y el residuo en bruto se purificó mediante CL-EM preparativa, proporcionando el compuesto del título, I<sub>HSF</sub> 108 en forma de un cristal de color dorado (3,4 mg, 1,78 %). AnalpH2\_MeOH\_QC; Rt 4,51 min (>95 %); m/z 335 (MH<sup>+</sup>).

### 1.3.5 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta E

Tabla 12: Compuestos finales sintetizados mediante la ruta E

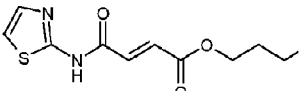
| Compuesto                                                                                                                                      | I <sub>HSF</sub> | Int. | Datos analíticos:                                                             | Rendimiento |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <br>Etilamida de ácido (E)-but-2-enedioico tiazol-2-ilamida | 030              | A1   | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 5,90 min (85 %); m/z 226 (MH <sup>+</sup> ); sólido beige | 34 mg, 89 % |

(continuación)

| Compuesto                                                                                                                                                          | I <sub>HSF</sub> | Int. | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                  | Rendimiento |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <br>Isopropilamida de ácido<br>(E)-but-2-enodioico tiazol-2-ilamida               | 031              | A1   | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,40 min (98%); m/z 240 (MH <sup>+</sup> ); sólido beige                                                                                                                                                                                                       | 36 mg, 90 % |
| <br>Dietilamida de ácido (E)-<br>but-2-enodioico (4-metil-<br>tiazol-2-il)-amida  | 060              | A2   | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 7,20 min (95%); m/z 268 (MH <sup>+</sup> ); sólido marrón pálido                                                                                                                                                                                               | 26 mg, 58%  |
| <br>Dimetilamida de ácido (E)-<br>but-2-enodioico (4-metil-<br>tiazol-2-il)-amida | 061              | A2   | AnalpH2_MeOH_QC; Rt 6,38 min (98 %); m/z 240 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (d <sup>6</sup> -DMSO) - δ 2,37 (s, 3H), δ3,02 (s, 3H), δ3,20 (s, 3H), δ6,93 (s, 1H), δ7,09-7,12 (d, 1H, J = 15,1 Hz), δ7,57-7,61 (d, 1H, J = 15,1 Hz), δ12,61 (s, br, 1H); sólido blanquecino | 5 mg, 13 %  |

## 1.3.6 Compuestos finales sintetizados mediante la ruta F

Tabla 13: Compuestos finales sintetizados mediante la ruta F

| Compuesto                                                                                                                                             | I <sub>HSF</sub> | Int.<br>* | Datos analíticos:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Rendimiento |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <br>Butil-éster de ácido (E)-3-<br>(tiazol-2-ilcarbamoyl)-acrílico | 042              |           | AnalpH2_MeCN_QC; Rt 5,98 min (100 %); m/z 255 (MH <sup>+</sup> ); RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> ) - δ 0,85-0,89 (t, 3H), δ1,28-1,37 (m, 2H), δ1,57-1,64 (m, 2H), δ4,18-4,22 (t, 2H) δ6,27-6,30 (d, 1H, J = 13,4 Hz), δ6,44-6,47 (d, 1H, J = 13,4 Hz), δ6,93-6,94 (d, 1H), δ7,44-7,45 (d, 1H) δ12,90 (s, br, 1H); sólido blanco | 15 mg, 46 % |
| * Donde la columna de intermedio se deja en blanco, el material o materiales de partida se encontraban disponibles comercialmente.                    |                  |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |             |

## 1.4 Compuestos finales: ruta G

## 1.4.1 Síntesis de compuestos finales mediante la ruta G

## Síntesis de intermedio ácido (A1):

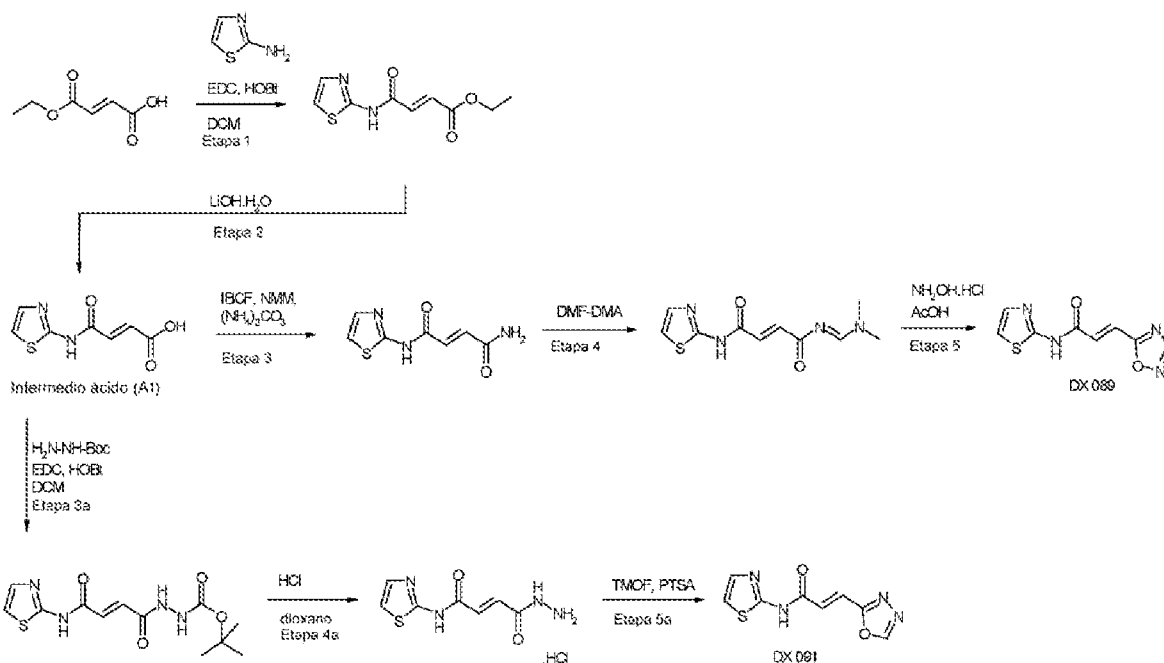
Etapa 1: (E)-Etil-4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)-but-2-enoate. A una solución bajo agitación de monoetil-éster de ácido fumárico (1 g, 6,94 mmoles) en DCM (100 ml) a 0 °C se añadió EDC (1,6 g, 8,33 mmoles), HOBT (1,14 g, 8,33 mmoles) y 2-aminotiazol (694 mg, 6,94 mmoles) secuencialmente y se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con DCM (2x200 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con agua (2x100 ml), solución hipersalina (2x100 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc/éter de petróleo), proporcionando 4-oxo-4-(tiazol-2-il)amino-2-enoato de (E)-etilo en forma de un sólido amarillo pálido (500 mg, 32 %). R<sub>f</sub>: 0,4 (EtOAc al 20 %/éter pet.). RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup> DMSO) - δ1,23-1,28 (t, 3H), δ4,19-4,25 (q, 2H), δ6,8-6,84 (d, 1H), δ7,25-7,29 (d, 1H), δ7,33-7,34 (d, 1H), δ7,55-7,56 (d, 1H), δ12,72 (s, br, 1H).

Etapa 2: ácido (E)-4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)-but-2-enoico (intermedio ácido A1). A una solución de 4-oxo-4-(tiazol-2-

ilamino)-but-2-enoato de (E)-etilo (500 mg, 2,37 mmoles) en THF/agua (1:1) se añadió LiOH (199 mg, 4,74 mmoles) y se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se acidificó con solución acuosa sat. de  $\text{KHSO}_4$ , se diluyó con agua y el sólido precipitado se recogió mediante filtración, proporcionando ácido (E)-4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)-but-2-enoico (intermedio ácido A1) en forma de un sólido amarillo pálido (350 mg, 75 %).  $R_f$  0,1 (MeOH al 10 %/ $\text{CHCl}_3$ ). RMN  $^1\text{H}$  ( $d^6$  DMSO) -  $\delta$ 6,75-6,79 (d, 1H),  $\delta$ 7,17-7,21 (d, 1H),  $\delta$ 7,32-7,33 (d, 1H),  $\delta$ 7,55-7,56 (d, 1H),  $\delta$ 12,72 (s, br, 1H),  $\delta$ 13,16 (s, br, 1H).

*Síntesis del compuesto final I<sub>HSF</sub> 089 mediante el intermedio ácido A1:*

Etapa 3: N<sup>1</sup>-(Tiazol-2-il)fumaramida. A una suspensión bajo agitación de ácido (E)-4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)-but-2-enoico (A1) (200 mg, 1,01 mmoles) en THF seco a -40 °C se añadió NMM (122 mg, 1,21 mmoles) y clorofornato de isobutilo (166 mg, 1,21 mmoles) y la reacción se sometió a agitación durante 20 min. Se añadió carbonato amónico (484 mg, 5,05 mmoles) y la mezcla de reacción se dejó que se calentase hasta la temperatura ambiente durante 2 h. Se evaporó el solvente al vacío y el residuo se diluyó con agua. El sólido precipitado se recogió mediante filtración y se lavó con  $\text{Et}_2\text{O}$ , obteniendo N<sup>1</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida en forma de un sólido marrón pálido (180 mg, 90 %).  $R_f$  0,2 (MeOH al 10 %/ $\text{CHCl}_3$ ). RMN  $^1\text{H}$  ( $d^6$  DMSO) -  $\delta$ 7,07 (s, br, 2H),  $\delta$ 7,3-7,31 (d, 1H),  $\delta$ 7,50 (s, br, 1H),  $\delta$ 7,54-7,55 (d, 1H),  $\delta$ 7,95 (s, br, 1H),  $\delta$ 12,62 (s, br, 1H)



Etapa 4: (E)-N<sup>1</sup>-(Dimetilamino)metilén-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida. A una solución bajo agitación de N<sup>1</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida (300 mg, 1,52 mmoles) en 1,4-dioxano seco (20 ml) se añadió DMF-DMA y se calentó a 80 °C durante 2 h. Se evaporaron los orgánicos volátiles al vacío, y el sólido en bruto se lavó con  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 × 20ml), proporcionando (E)-N<sup>1</sup>-(dimetilamino)metilén-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida en forma de un sólido marrón (150 mg, 99 %).  $R_f$  0,3 (MeOH al 10 %/ $\text{CHCl}_3$ ). RMN  $^1\text{H}$  ( $d^6$  DMSO) -  $\delta$ 3,10 (s, 3H),  $\delta$  3,19 (s, 3H),  $\delta$ 6,92-6,96 (d, 1H),  $\delta$ 7,26-7,30 (d, 1H),  $\delta$ 7,30-7,31 (d, 1H),  $\delta$ 7,53-7,54 (d, 1H),  $\delta$ 8,54 (s, br, 1H),  $\delta$ 12,59 (s, br, 1H)

Etapa 5: (E)-3-(1,2,4-Oxadiazol-5-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida (I<sub>HSF</sub> 089, identificado como DX 089 en el esquema anterior). A una solución bajo agitación de hidrocloreto de hidroxilamina (50 mg, 0,72 mmoles) en solución acuosa 5 M de NaOH (0,15 ml, 0,72 mmoles) y ácido acético (1,5 ml) en 1,4-dioxano se añadió N<sup>1</sup>-(dimetilamino)metilén-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida (150 mg, 0,60 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se suspendió en agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2×50 ml). La capa orgánica se lavó con solución hipersalina (50 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró al vacío. Se purificó el compuesto en bruto mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc al 40 %/éter de petróleo), obteniendo I<sub>HSF</sub> 089 en forma de un sólido amarillo (25 mg, 19 %).  $R_f$  0,7 (MeOH al 10 %/ $\text{CHCl}_3$ ). Método\_2\_TFA\_UPLC\_2; Rt 1,74 min (94 %); m/z 223 (MH<sup>+</sup>); RMN  $^1\text{H}$  ( $d^6$  DMSO) -  $\delta$ 7,35-7,36 (d, 1H),  $\delta$ 7,47-7,51 (d, 1H, J = 15,8 Hz),  $\delta$ 7,57-7,58 (d, 1H),  $\delta$ 7,58-7,62 (d, 1H, J = 15,8 Hz),  $\delta$ 9,16 (s, 1H),  $\delta$ 12,81 (s, br, 1H).

*Síntesis del compuesto final I<sub>HSF</sub> 091 mediante el intermedio ácido A1:*

Etapa 3a: (E)-terc-Butil-2-(4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoil)hidrazincarboxilato. A una suspensión bajo agitación de ácido (E)-4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enoico (A1) (500 mg, 2,52 mmoles) en DCM (50 ml) a 0 °C se añadió secuencialmente DIPEA (0,62 ml, 3,53 mmoles), EDC (540 mg, 2,83 mmoles), HOBt (390 mg, 2,83 mmoles) y Boc-

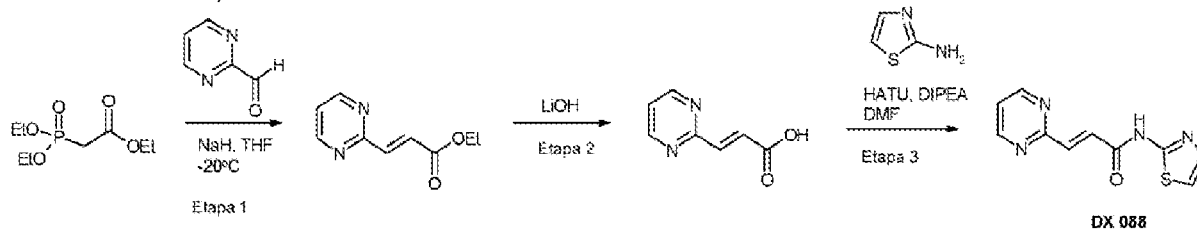
hidrazina (340 mg, 2,59 mmoles) y la mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml), se extrajo con DCM (2x200 ml), se lavó la capa orgánica con solución hipersalina (50 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc al 60 %/éter de petróleo), obteniendo (E)-*tert*-butil-2-(4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enil)hidrazinocarboxilato en forma de un sólido blanco (200 mg, 26 %). *R*<sub>f</sub> 0,6 (MeOH al 10 %/CHCl<sub>3</sub>). RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup> DMSO) - δ1,42 (s, 9H), δ7,02-7,06 (d, 1H), δ7,17-7,21 (d, 1H), δ7,31-7,32 (d, 1H), δ7,54-7,56 (d, 1H), δ9,04 (s, br, 1H), δ10,23 (s, br, 1H), δ12,69 (s, br, 1H); MS (APCI) *m/z* 313 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 4a: hidrocloreto de (E)-4-Hidrazinil-oxo-N-(tiazol-2-il)but-2-enamida A una solución bajo agitación de (E)-*tert*-butyl-2-(4-oxo-4-(tiazol-2-ilamino)but-2-enyl)hydrazinecarboxilato (200 mg, 0,64 mmoles) en 1,4-dioxano seco (20 ml), se enfrió a 0 °C se añadió lentamente HCl en dioxano (5 ml) y la reacción se dejó bajo agitación a temperatura ambiente durante 16 h. Se evaporaron los volátiles orgánicos al vacío y el sólido precipitado se lavó con Et<sub>2</sub>O (2x20 ml), proporcionando hidrocloreto de (E)-4-hidrazinil-oxo-N-(tiazol-2-il)but-2-enamida en forma de un sólido blanco (150 mg, rendimiento de 99 % en bruto). *R*<sub>f</sub> 0,2 (MeOH al 10 %/CHCl<sub>3</sub>). RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup> DMSO) - δ7,10-7,13 (d, 1H), δ7,28-7,31 (d, 1H), δ7,34-7,35 (d, 1H), δ7,56-7,57 (d, 1H), δ11,74 (s, br, 1H), δ12,75 (s, br, 1H) - algunos protones intercambiables no son visibles; EM (APCI) *m/z* 213 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 5a: (E)-3-(1,3,4-Oxadiazol-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida (I<sub>HSF</sub> 091, identificado como DX 091 en el esquema anterior). A una solución de hidrocloreto de (E)-4-hidrazinil-oxo-N-(tiazol-2-il)but-2-enamida (200 mg, 0,81 mmoles) en ortoformato de trietilo (6 ml) se añadió PTSA (catalítico) y se calentó a 100 °C en un tubo sellado durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2x50 ml). La capa orgánica se lavó con solución hipersalina (50 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc al 75 %/éter de petróleo), obteniendo el compuesto (E)-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida, I<sub>HSF</sub> 091 en forma de un sólido amarillo (50 mg, 28 %). *R*<sub>f</sub> 0,5 (MeOH al 10 %/CHCl<sub>3</sub>). AK4; Rt 1,09 min (96 %); *m/z* 223 (MH<sup>+</sup>); RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup> DMSO) - δ7,28-7,32 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz), δ7,34-7,35 (d, 1H), δ7,56-7,60 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz), δ7,56-7,57 (d, 1H), δ9,38 (s, 1H), δ12,74 (s, br, 1H).

## 1.5 Compuestos finales: ruta H

### 1.5.1 Síntesis de compuestos finales I<sub>HSF</sub> 088 mediante la ruta H



Etapa 1: 3-(pirimidín-2-il)acrilato de (E)-etilo. A una solución premezclada de trietilfosfonoacetato (270 mg, 1,2 mmoles) en THF (5 ml) se añadió una suspensión de NaH (40 mg, 1,01 mmoles) en THF a -15 °C durante un periodo de 10 min. La reacción se sometió a agitación a -15 °C durante 30 min. A la mezcla de reacción se añadió una solución premezclada de pirimidín-2-carbaldehído (100 mg, 0,92 mmoles) en THF (15 ml) a -20 °C durante un periodo de 10 min. La mezcla de reacción se desactivó con agua helada y se extrajo con EtOAc (2x20 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con agua (2x10 ml), solución hipersalina (2x10 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, eluyendo con EtOAc al 10-20 %/éter de petróleo), proporcionando 3-(pirimidín-2-il)acrilato de (E)-etilo en forma de un líquido amarillo pálido (60 mg, 36 %). *R*<sub>f</sub> 0,6 (EtOAc al 50%/éter pet.). XTERRA; Rt 2,92 min (99 %); *m/z* 179 (MH<sup>+</sup>); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) - δ1,33-1,37 (t, 3H), δ4,27-4,32 (q, 2H), δ7,17-7,27 (m, 2H), δ7,68-7,72 (d, 1H), δ8,77-8,79 (d, 2H).

Etapa 2: ácido (E)-3-(pirimidín-2-il)acrílico. A una solución bajo agitación de 3-(pirimidín-2-il)acrilato de (E)-etilo (80 mg, 0,44 mmoles) en THF (10 ml) se añadió una solución acuosa de LiOH·H<sub>2</sub>O (75 mg, 1,79 mmoles) a temperatura ambiente. Después de 3 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se extrajo con EtOAc (10 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con solución hipersalina (2x10 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron al vacío, proporcionando ácido (E)-3-(pirimidín-2-il)acrílico en forma de un sólido blanquecino (40 mg, 59 %). *R*<sub>f</sub> 0,2 (EtOAc al 70 %/éter de pet.). RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup>-DMSO) - δ6,98-7,02 (d, 1H), δ7,43-7,47 (d, 1H), δ7,49-7,51 (t, 1H), δ8,88-8,90 (d, 2H), δ12,88 (s, br, 1H).

Etapa 3: (E)-3-(Pirimidín-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida (I<sub>HSF</sub> 088, identificado como DX 088 en el esquema anterior). A una suspensión bajo agitación de ácido (E)-3-(pirimidín-2-il)acrílico (50 mg, 0,32 mmoles) en DMF (3 ml) se añadió DIPEA (0,1 ml, 0,64 mmoles), HATU (187 mg, 0,49 mmoles) y 2-aminotiazol (35 mg, 0,35 mmoles) secuencialmente a 0 °C. La reacción se calentó lentamente hasta la temperatura ambiente y se sometió a agitación durante 30 min. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y después solución hipersalina; se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró bajo presión reducida, obteniendo el producto en bruto. El producto en bruto se trituró con

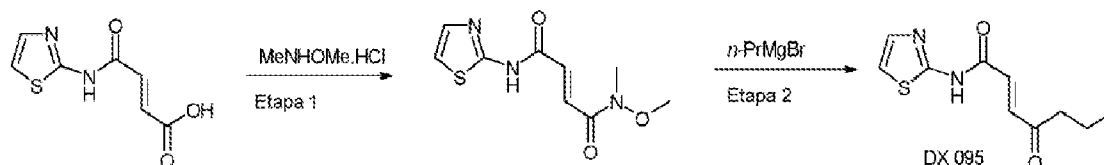
MeOH, se filtró y se lavó con MeOH, proporcionando (E)-3-(pirimidín-2-il)-N-(tiazol-2-il)acrilamida, I<sub>HSF</sub> 088, en forma de un sólido amarillo (18 mg, 24 %). *R<sub>f</sub>*: 0,3 (EtOAc al 70%/éter de pet.).

Método\_2\_TFA\_UPLC\_2; Rt 1,49 min (99 %); m/z 233 (MH<sup>+</sup>); RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D) - δ7,19-7,20 (d, 1H), δ7,49-7,53 (d, 1H), δ7,5-7,52 (d, 2H), δ7,83-7,87 (d, 1H, J = 14,95 Hz), δ9,00 (d, 1H), δ11,67 (s, br, 1H).

## 1.6 Compuestos finales: ruta I

### Síntesis de compuesto final I<sub>HSF</sub> 095 mediante la ruta I

Etapa 1: N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-Dimetil-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida. A una solución bajo agitación de ácido 3-(tiazol-2-ilcarbamoyl)-acrilico (500 mg, 2,52 mmoles) en THF seco a -40 °C se añadió NMM (306 mg, 3,03 mmoles) y clorofornato de isobutilo (413 mg, 3,03 mmoles), y la solución se sometió a agitación durante 20 min. Se añadió hidrocloreto de N,O-dimetilhidroxilamina (154 mg, 2,52 mmoles) a la mezcla de reacción, que se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se sometió a agitación durante 2 h. Se evaporó el solvente al vacío y el residuo se diluyó con agua, se extrajo con EtOAc (2x100 ml) y las capas orgánicas agrupadas se lavaron con agua (2x100 ml), solución hipersalina (2x100 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100 a 200, EtOAc al 60 %/éter de petróleo como eluyente), proporcionando N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-dimetil-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida en forma de un sólido blanquecino (250 mg, 41 %). *R<sub>f</sub>*: 0,2 (EtOH al 40 %/éter pet.). RMN <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup>-DMSO) - δ3,2 (s, 3H), δ3,73 (s, 3H), δ7,15-7,19 (d, 1H), δ7,3-7,31 (d of d, 1H), δ7,41-7,44 (d, 1H), δ7,53-7,54 (d of d, 1H), δ12,68 (s, br, 1H).



Etapa 2: (E)-4-Oxo-N-(tiazol-2-il)hept-2-enamida (I<sub>HSF</sub> 095, identificado como DX 095 en el esquema anterior). A una solución bajo agitación de N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-dimetil-N<sup>4</sup>-(tiazol-2-il)fumaramida. (150 mg, 0,63 mmoles) en THF seco, enfriada a 0 °C, se añadió lentamente una solución recién preparada de bromuro de n-propilmagnesio (37 mg, 1,55 mmoles). La reacción se sometió a agitación a 0 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se desactivó con solución acuosa sat. de NH<sub>4</sub>Cl; se evaporó el solvente al vacío y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2x100 ml). Las capas orgánicas agrupadas se lavaron con agua (2x100 ml), solución hipersalina (2x100 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (gel de sílice, malla de 100-200, EtOAc al 18 %/éter de petróleo), proporcionando (E)-4-oxo-N-(tiazol-2-il)hept-2-enamida, I<sub>HSF</sub> 095, en forma de un sólido blanco (25 mg, 18 %). *R<sub>f</sub>*: 0,6 (EtOH al 30%/éter pet.). CL-EM-2; Rt 1,32 min (97 %); m/z 225 (MH<sup>+</sup>); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) - δ0,96-1,00 (t, 3H), δ1,68-1,77 (m, 2H), δ2,65-2,68 (t, 2H), δ7,09-7,13 (d, 1H, J = 15,8 Hz), δ7,12-7,13 (d, 1H), δ7,33-7,37 (d, 1H, J = 15,82 Hz), δ7,67-7,68 (d, 1H), δ12,24 (s, br, 1H).

## Ejemplo 2: Composiciones farmacéuticas para la administración parenteral

### 2.1 Formulación de I<sub>HSF</sub> 115 en Kleptose HPB

Tabla 14: I<sub>HSF</sub> 115 en Kleptose HPB acuoso

| Componente           | Cantidad |
|----------------------|----------|
| I <sub>HSF</sub> 115 | 85 mg    |
| Kleptose HPB         | 3,035 g  |
| Agua                 | 8,5 g    |

Preparación de una formulación parenteral para la utilización en los experimentos descritos en el Ejemplo 3:

- Preparación de 15 ml de una solución madre 357 mg/ml de Kleptose HPB (Roquette Pharma) en agua (de los cuales la cantidad no utilizada inferior a 2 se reserva para los controles de vehículo).
- Disolución de 85 mg de compuesto 0115 en 8,5 ml de solución madre de Kleptose mediante incubación de la solución durante la noche bajo agitación lenta (a temperatura ambiente). Más de 90 % de la sustancia farmacológica se disolverá después de esta incubación.
- Agitación con vortex breve y filtración a esterilidad de la solución de la etapa 2 a través de una unidad de filtración accionada por jeringa MillexR-GV (n.º de SLGV 004 SL, Milipore).
- Para las dosis de 2 mg y 1 mg, dosis no diluidas de 200 µl y 100 µl, respectivamente.

### 2.2 Formulaciones de suspensión de I<sub>HSF</sub> 115

#### 2.2.1 Formulación con Solutol HS15 y lecitina

Tabla 15: formulación con Solutol HS15 y lecitina

| Componente                                      | Cantidad/volumen |
|-------------------------------------------------|------------------|
| I <sub>HSF</sub> 115                            | 25 mg            |
| Solutol HS15 (1 g/ml en agua) *                 | 37,5 µl          |
| Fosfatidilcolina (0,25 g/ml en agua)*           | 400 µl           |
| Agua                                            | 537,5 µl         |
| *Compuestos químicos obtenidos de Sigma-Aldrich |                  |

Preparación de una formulación parenteral para la utilización en los experimentos descritos en el Ejemplo 4:

1. Mezcla de solventes (Solutol HS15, fosfatidilcolina y agua).
2. Esterilización en autoclave y adición de agua para compensar las pérdidas, en caso de haber.
2. Utilización de la mezcla de solvente esterilizada para disolver I<sub>HSF</sub> 115 (esterilizado con radiación β (25 kGy)) mediante agitación de la mezcla completa a 60 °C durante aproximadamente 10 minutos.

#### 2.2.2 Formulación con Cremophor EL y lecitina

Tabla 16: formulación con Cremophor EL y lecitina

| Componente                                      | Cantidad/volumen |
|-------------------------------------------------|------------------|
| I <sub>HSF</sub> 115                            | 25 mg            |
| Cremophor EL (1 g/ml en agua)*                  | 25 µl            |
| Fosfatidilcolina (0,25 g/ml en agua)*           | 400 µl           |
| Agua                                            | 270 µl           |
| Glucosa al 5 %                                  | 280 µl           |
| *Compuestos químicos obtenidos de Sigma-Aldrich |                  |

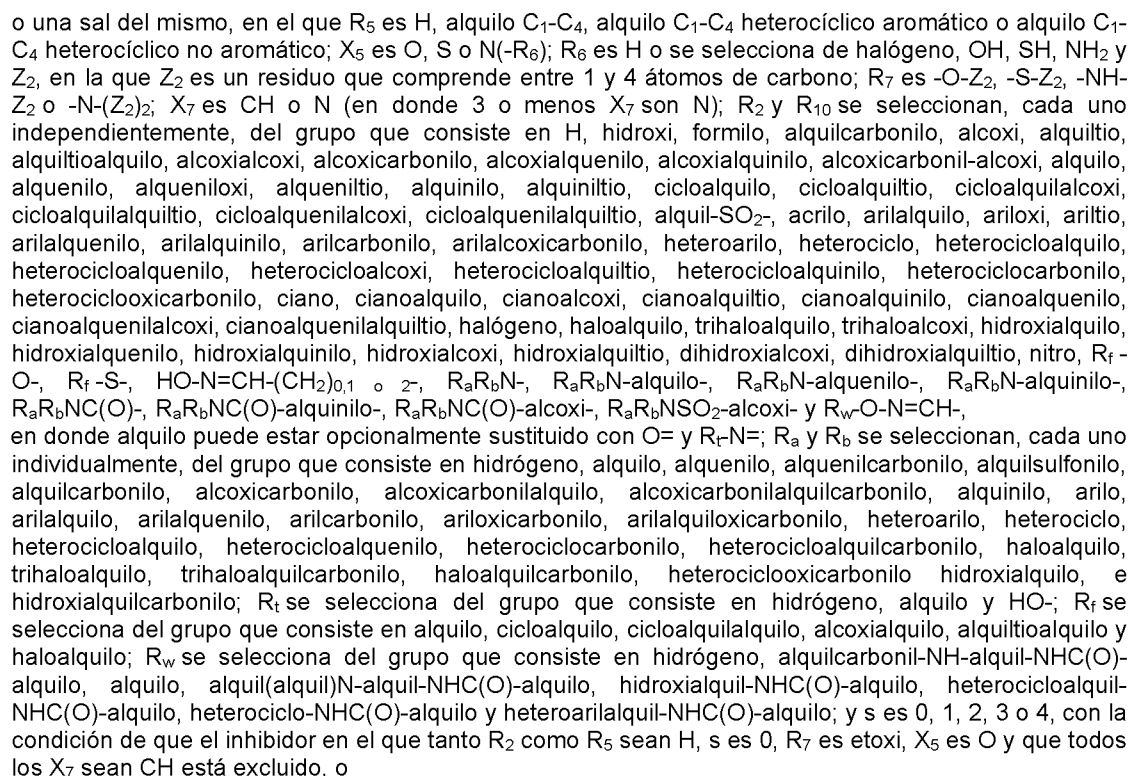
Preparación de una formulación parenteral:

1. Mezcla de solventes (Cremophor EL, fosfatidilcolina, glucosa y agua).
2. Esterilización en autoclave y adición de agua para compensar las pérdidas, en caso de haber.
2. Utilización de la mezcla de solvente esterilizada para disolver I<sub>HSF</sub> 115 (esterilizado con radiación β (25 kGy)) mediante agitación de la mezcla completa a 60 °C durante aproximadamente 10 minutos.

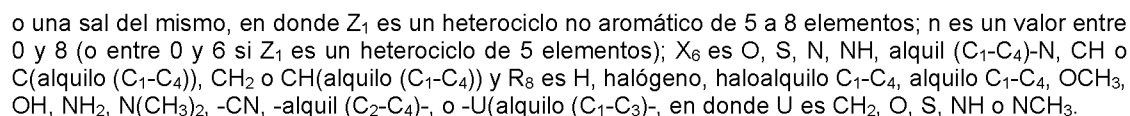
Ejemplo 3: Actividad antitumoral de I<sub>HSF</sub> 115 como agente individual en un modelo de xenoinjerto de cáncer prostático humano.

Se obtuvo la línea celular de cáncer de próstata PC-3 de la ATCC y se cultivó en un cultivo de tejido bajo condiciones estándares. En grupos (8 animales) de ratones atímicos (6 a 7 semanas de edad, macho, obtenidos de Harlan) se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho  $5 \times 10^6$  células PC-3. Las células se administraron como una mezcla 1:1 de células en medio y Matrigel. Se inició el tratamiento cuando el tamaño tumoral alcanzó aproximadamente 200 mg, momento en el que los ratones fueron asignados aleatoriamente. De los diversos grupos en el experimento, un grupo recibió una dosis intravenosa diaria (en la vena de la cola) de 2 mg de I<sub>HSF</sub> 115 en una solución acuosa de Kleptose HPB (ver el Ejemplo 2.1) durante 7 días, seguido de dosis adicionales de 2 mg de I<sub>HSF</sub> 115 cada dos días. Otro grupo recibió una dosis diaria de 0,8 mg de I<sub>HSF</sub> 115 en una solución acuosa de Kleptose HPB (ver el Ejemplo 2.1) durante 7 días, seguido de dosis adicionales de 0,8 mg de I<sub>HSF</sub> 115 cada dos días. Un grupo de control de sometió al mismo régimen, administrando solo vehículo (solución de Kleptose HPB). El tamaño y peso tumoral se evaluó periódicamente y se registró. El tamaño tumoral se evaluó utilizando un pie de rey. Cálculo: peso tumoral (mg) =  $(a \times b^2/2)$ , donde «b» es el diámetro mínimo y «a» es el diámetro máximo. Los resultados para el periodo de administración diaria se muestran en la fig. 9. La administración diaria de 2 mg de I<sub>HSF</sub> 115 resultó en una reducción sustancial (y estadísticamente significativa) del crecimiento tumoral. La dosis de 0,8 mg tuvo el efecto más pequeño. La pérdida de peso durante el periodo fue inferior a 4 %. No se observó toxicidad, excepto por cierta hinchazón local en la zona de la inoculación.

(a) fórmula (V):



(b) fórmula (VI):



## 56

3. Inhibidor de HSF según la reivindicación 1, en el que el inhibidor es etil-éster de ácido E-3-(5-piridín-3-il-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico o una sal del mismo.
- 5 4. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de HSF o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que el inhibidor de HSF es un derivado de acrilamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 10 5. Inhibidor de HSF para la utilización en el tratamiento o la profilaxis en un mamífero, incluyendo el ser humano, sujeto de una enfermedad hiperproliferativa, en el que el inhibidor de HSF es un derivado de acrilamida o una sal del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 15 6. Inhibidor de HSF para la utilización en el tratamiento o la profilaxis según la reivindicación 5, en el que el inhibidor de HSF es (*E*)-3-(5,6-dihidro-4*H*-[1,3]oxazín-2-il)-*N*-metil-*N*-(5-(piridín-3-il-tiazol-2-il)acrilamida.
7. Inhibidor de HSF para la utilización en el tratamiento o la profilaxis según la reivindicación 5, en el que el inhibidor de HSF es etil-éster de ácido E-3-(5-piridín-3-il-tiazol-2-ilcarbamoíl)-acrílico o una sal del mismo.
- 20 8. Inhibidor de HSF para la utilización en el tratamiento o la profilaxis según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la enfermedad hiperproliferativa es un cáncer de cuello uterino, un cáncer de mama, un cáncer pulmonar, un cáncer de próstata, un cáncer ovárico, un neuroblastoma, un cáncer de vaina de nervio periférico, una leucemia, un mieloma, un cáncer hepático o un osteosarcoma.

Figura 1

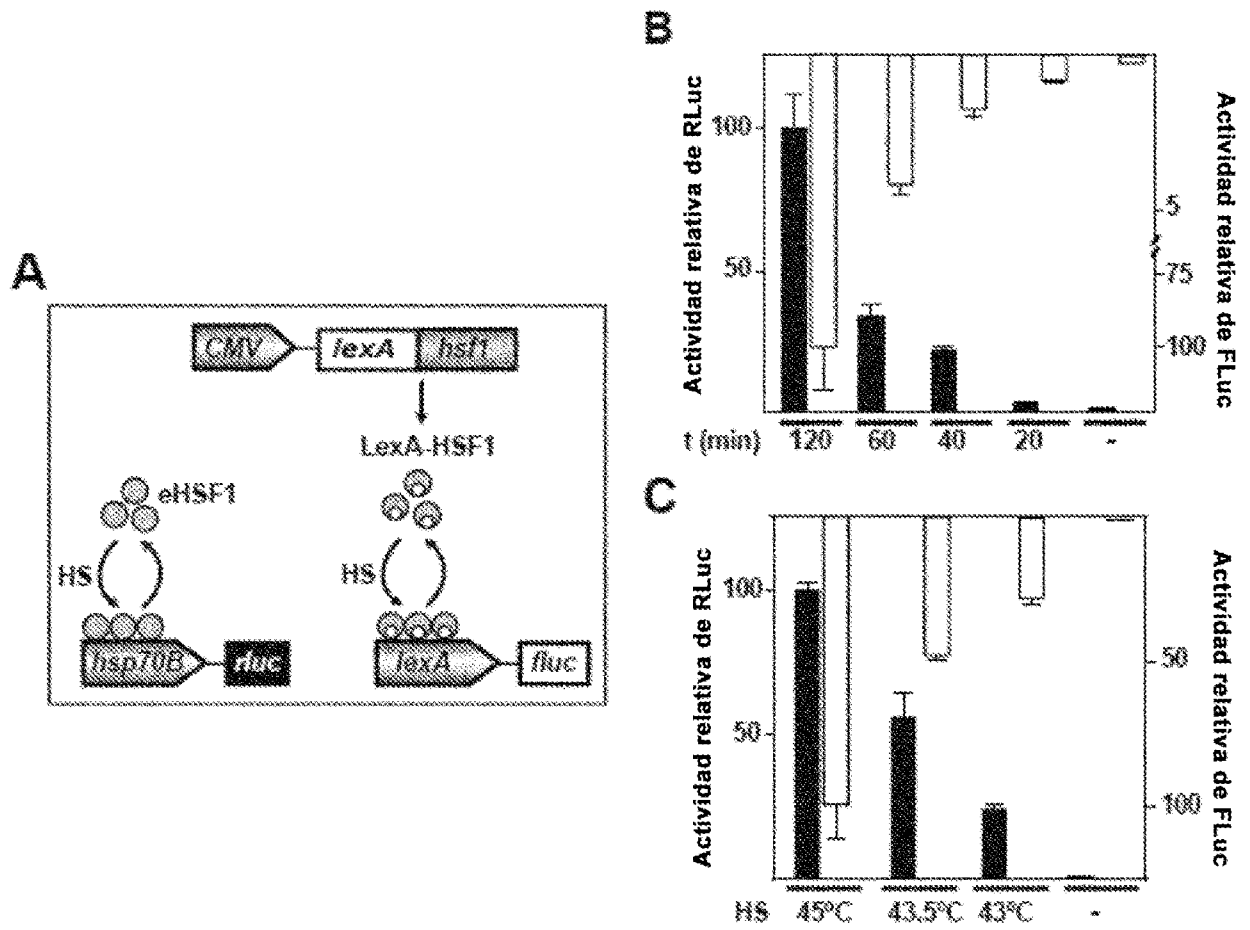


Figura 2

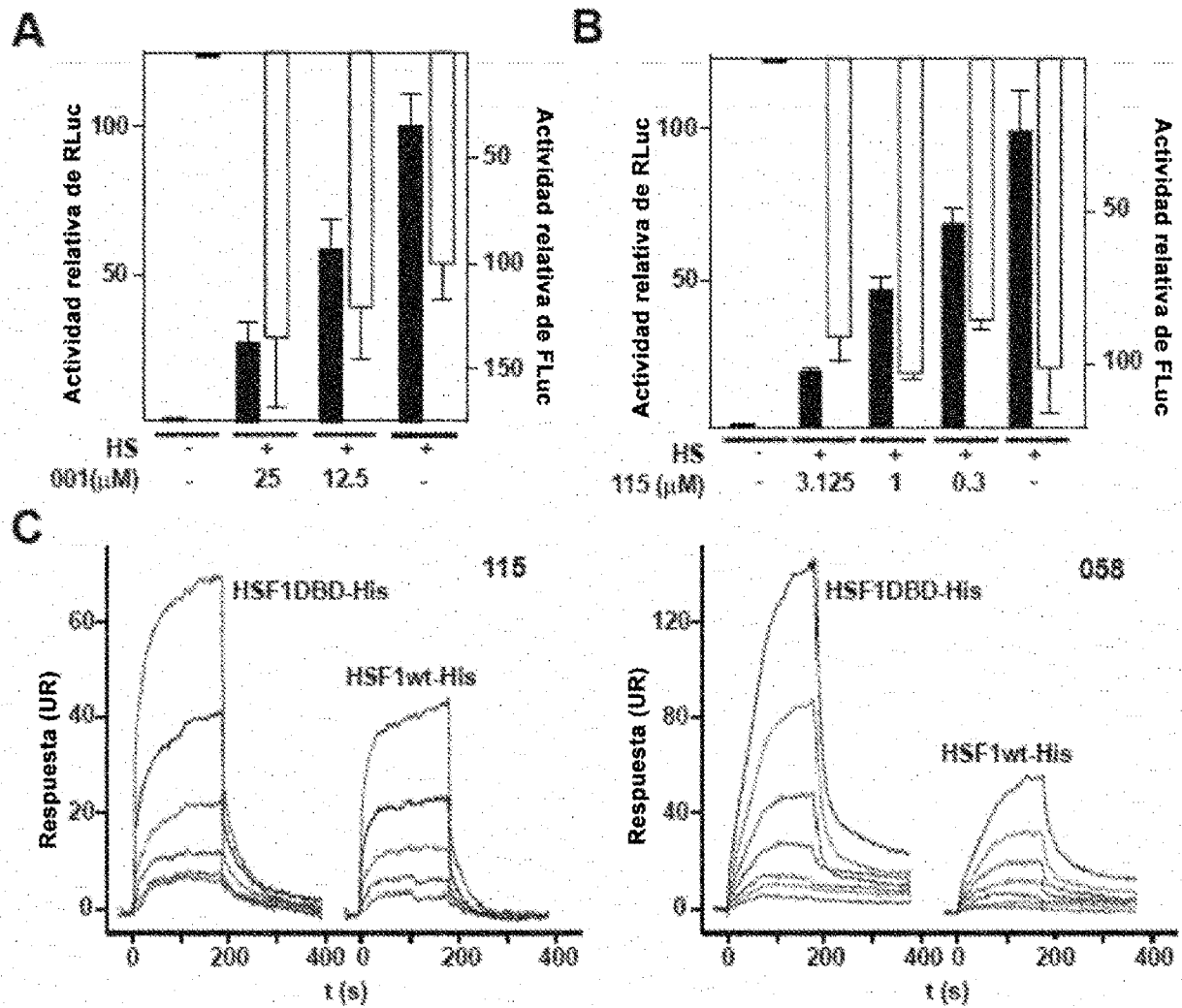


Figura 3

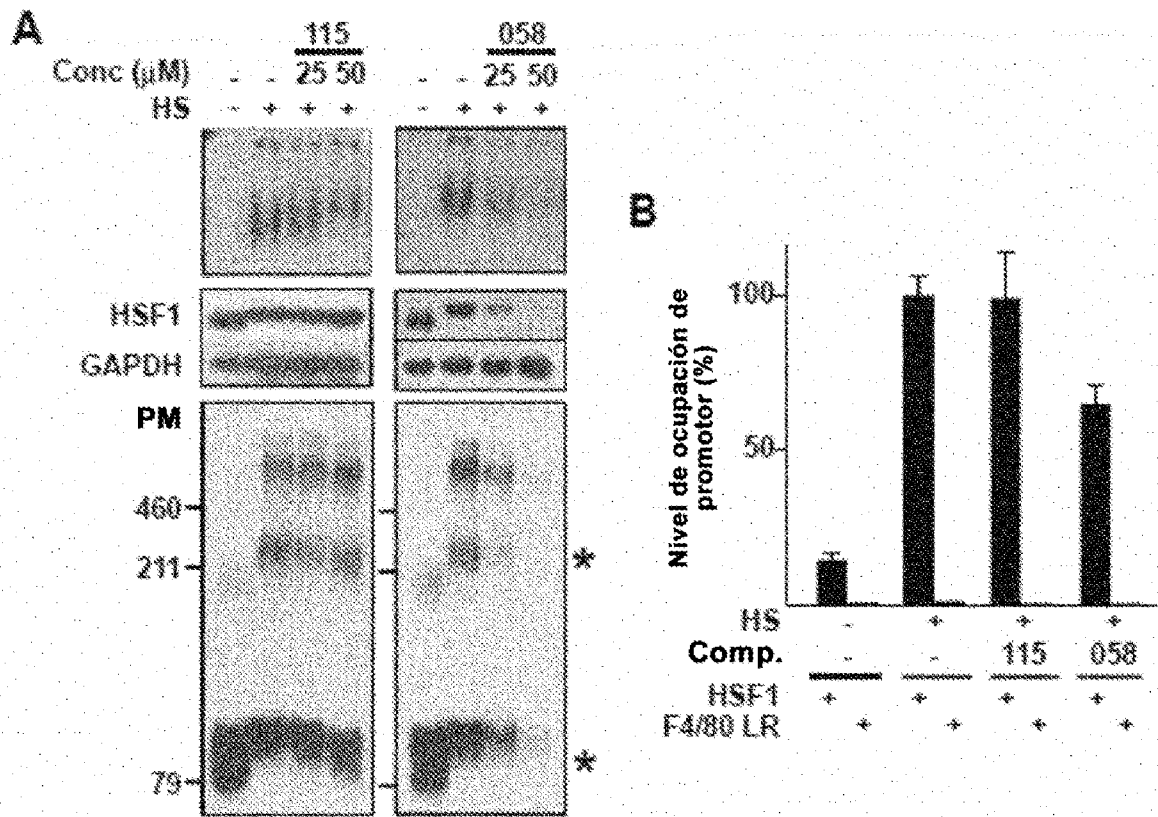


Figura 4

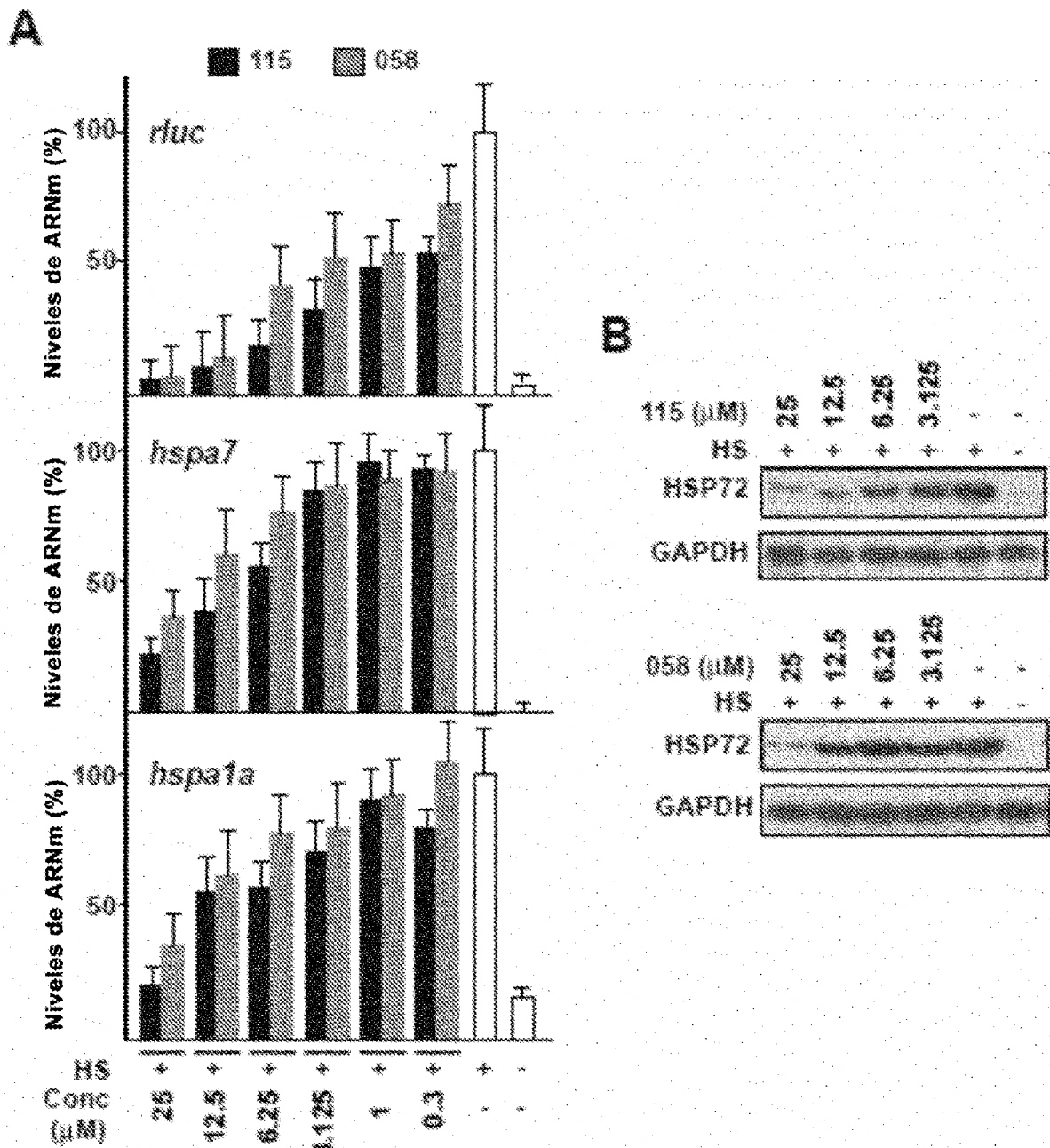


Figura 5

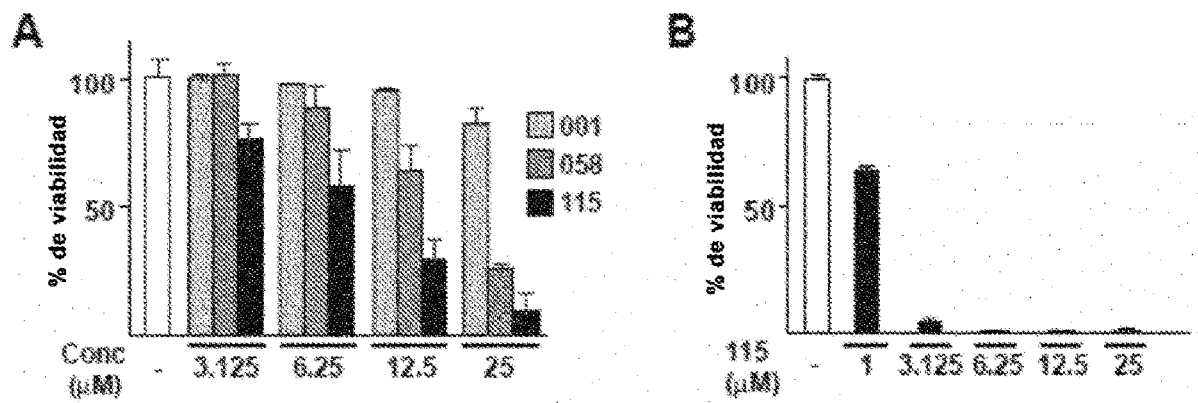
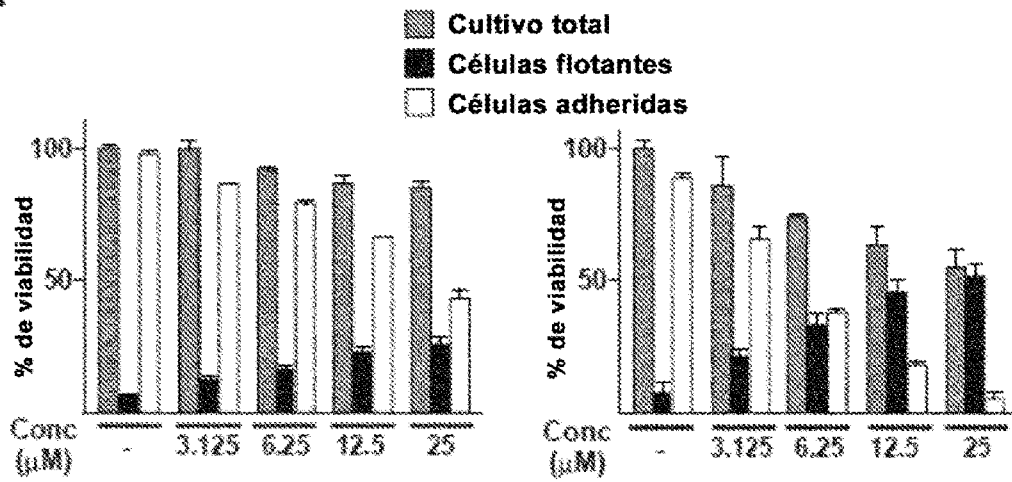
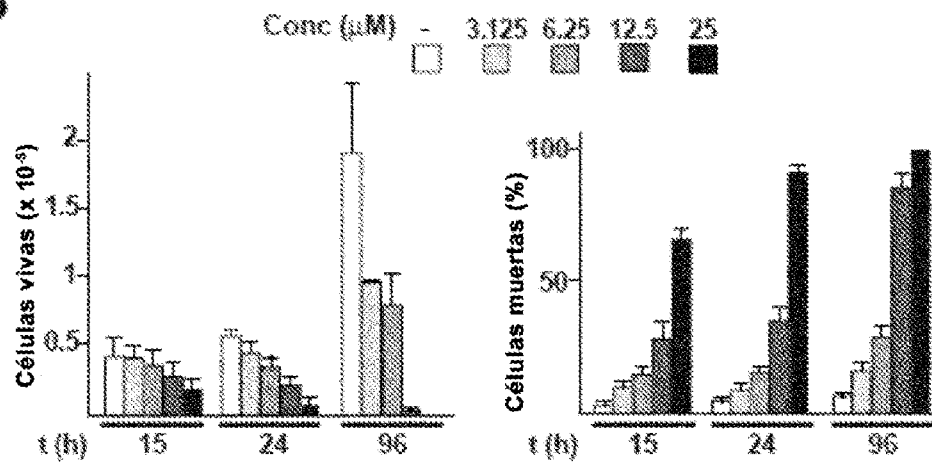


Figura 6

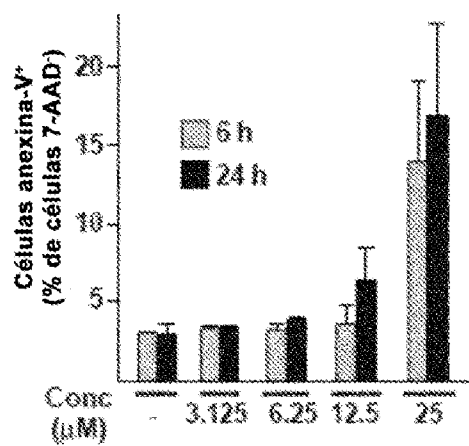
**A**



**B**



**C**



**D**

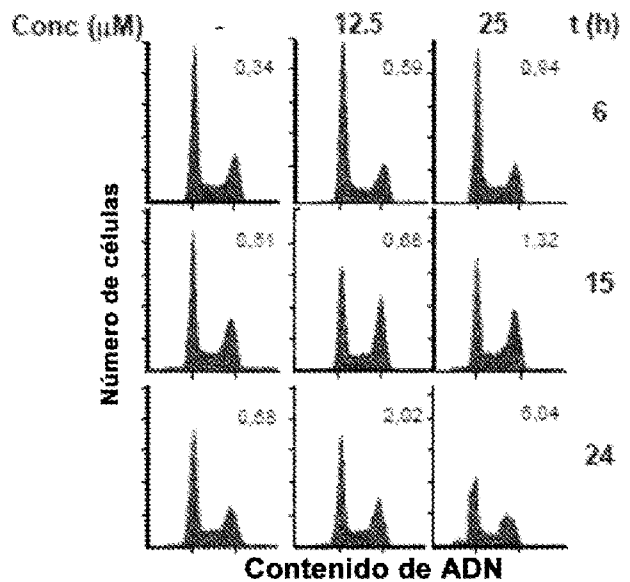


Figura 7

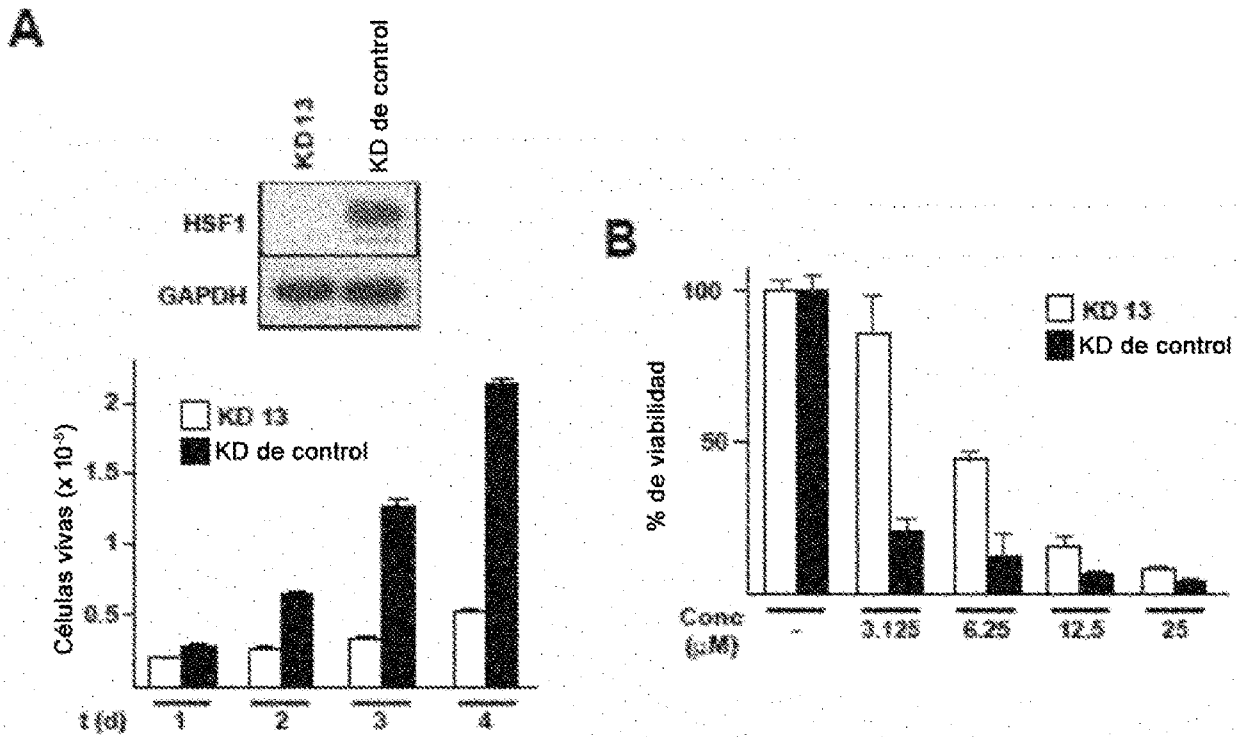


Figura 8

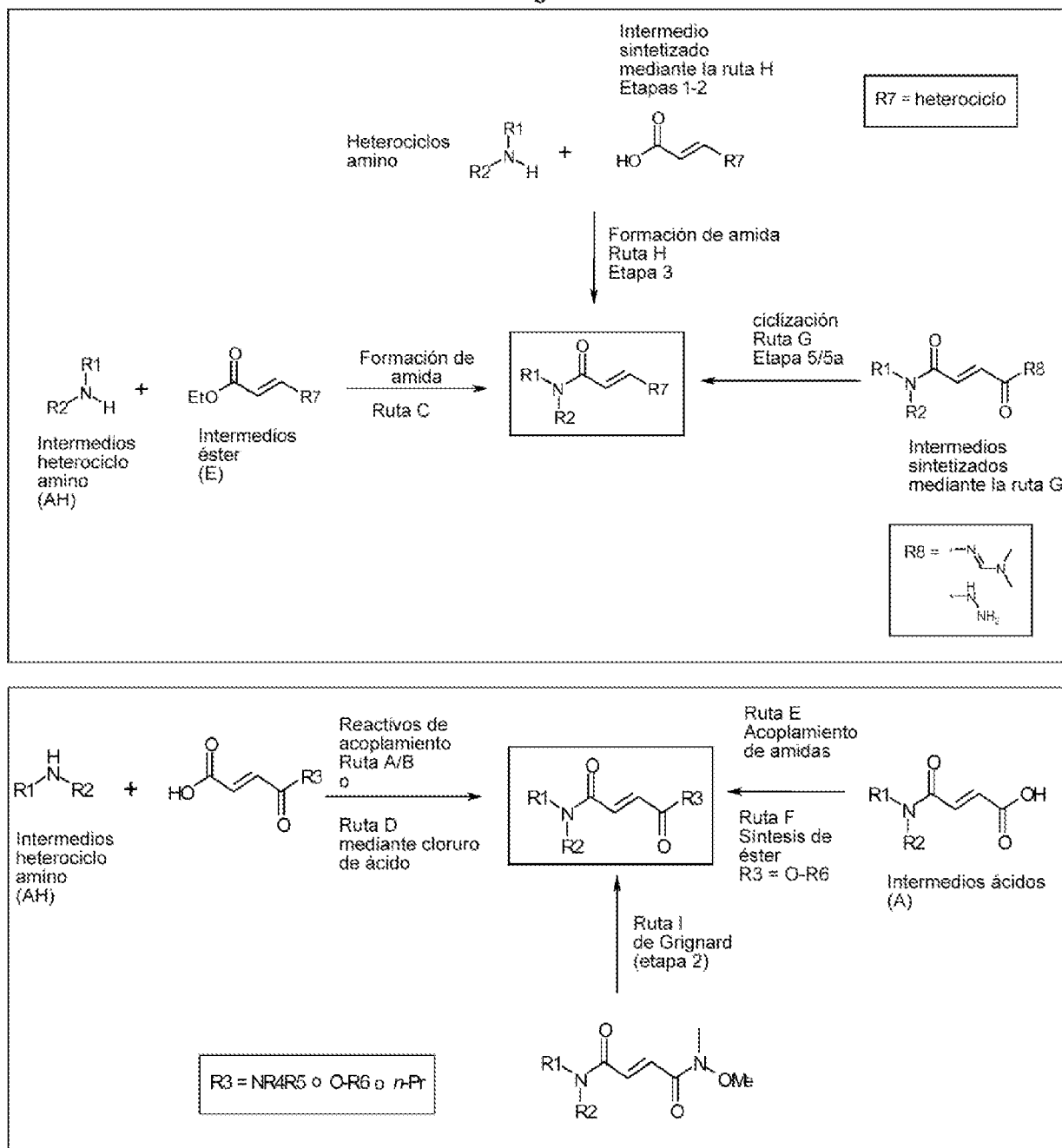


Figura 9

