



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 353 306**

51 Int. Cl.:

A61K 31/343 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 307/80 (2006.01)

C07D 307/85 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04757346 .4**

96 Fecha de presentación : **28.07.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1653944**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.05.2006**

54 Título: **Compuestos heterocíclicos útiles como inhibidores de la malonil-CoA-d Descarboxilasa.**

30 Prioridad: **01.08.2003 US 492030 P**

73 Titular/es: **CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
5-1, Ukima 5-chome
Kita-ku, Tokyo, 115-8543, JP**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2011

72 Inventor/es: **Cheng, Jie, Fei;
Nguyen, Bao, Ngoc;
Liu, Xuewei;
Lopaschuk, Gary, D. y
Dyck, Jason, R.**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2011

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 353 306 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

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere a compuestos y sales farmacéuticamente aceptables y a composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos útiles para la profilaxis, la gestión o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y obesidad a través de la inhibición de la malonil-coenzimaA-d Descarboxilasa (malonil-CoA-d Descarboxilasa, MCD).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La malonil-CoA es un intermedio metabólico importante producido en el cuerpo por la enzima acetil-CoA-carboxilasa (ACC). En el hígado, los adipocitos y otros tejidos, la malonil-CoA es un sustrato para la sintasa de ácidos grasos (FAS). La ACC y la malonil-CoA se encuentran en el tejido muscular esquelético y en el tejido muscular cardíaco, donde la concentración de la sintasa de ácidos grasos es baja. La enzima malonil-CoA-d Descarboxilasa (MCD, EC 4.1.1.9) cataliza la transformación de malonil-CoA a acetil-CoA y, de este modo, regula la concentración de malonil-CoA. Se ha descrito actividad MCD en una amplia variedad de organismos, como procariotas, aves y mamíferos. La enzima se ha purificado a partir de la bacteria *Rhizobium trifolii* (An y col., J. Biochem. Mol. Biol. 32: 414-418 (1999)), las glándulas uropigiales de aves acuáticas (Buckner y col., Arch. Biochem. Biophys. 177:539 (1976); Kim y Kolattukudy, Arch. Biochem. Biophys. 190:585 (1978)), mitocondrias de hígado de rata (Kim y Kolattukudy, Arch. Biochem. Biophys. 190:234 (1978)), glándulas mamarias de rata (Kim y Kolattukudy, Biochem. Biophys. Acta 531:187 (1978)), células β de páncreas de rata (Voilley y col., Biochem. J. 340:213 (1999)) y ganso (Anser anser) (Jang y col., J. Biol. Chem. 264:3500 (1989)). La identificación de pacientes con deficiencia de MCD condujo a la clonación de un gen humano homólogo a los genes de MCD de ganso y de rata (Gao y col., J. Lipid Res. 40:178 (1999); Sacksteder y col., J. Biol. Chem. 274:24461 (1999); FitzPatrick y col., Am. J. Hum. Genet. 65:318 (1999)). En el análisis de transferencia de ARN (transferencia Northern) se observa un único ARNm de MCD humano. Los máximos niveles de expresión de ARNm se encuentran en los tejidos musculares y del corazón, seguidos del hígado, el riñón y el páncreas, con cantidades detectables en todos los demás tejidos examinados.

[0003] La malonil-CoA es un inhibidor endógeno potente de la carnitina-palmitoiltransferasa I (CPT-I), una enzima esencial para el metabolismo de los ácidos grasos de cadena larga. La CPT-I es la enzima limitante de la velocidad en la

oxidación de los ácidos grasos y cataliza la formación de acilcarnitina, que es transportada desde el citosol a través de las membranas mitocondriales por la acilcarnitina-translocasa. Dentro de las mitocondrias, los ácidos grasos de cadena larga se transfieren de nuevo a la forma de CoA por medio de una enzima complementaria, CPT-II, y, en las mitocondrias, la acil-CoA entra en la ruta de la β -oxidación y genera acetil-CoA. En el hígado se encuentran concentraciones altas de acetil-CoA, por ejemplo, después de una comida, lo que conduce a concentraciones elevadas de malonil-CoA que inhiben la CPT-I y, de este modo, impiden el metabolismo de las grasas y favorecen la síntesis de grasas. A la inversa, las concentraciones bajas de malonil-CoA favorecen el metabolismo de los ácidos grasos al permitir el transporte de los ácidos grasos de cadena larga al interior de las mitocondrias. Por consiguiente, la malonil-CoA es un metabolito fundamental que desempeña un papel clave en el equilibrio entre la síntesis y la oxidación de los ácidos grasos (Zammit, *Biochem. J.* 343:5050-515 (1999)). Algunos trabajos recientes indican que la MCD es capaz de regular tanto la concentración citoplasmática como la concentración mitocondrial de malonil-CoA (Alam y Saggerson, *Biochem. J.* 334:233-241 (1998); Dyck y col., *Am. J. Physiology* 275:H2122-2129 (1998)).

[0004] Aunque la malonil-CoA está presente en los tejidos muscular y cardíaco, en estos tejidos solamente se han detectado concentraciones bajas de FAS. Se cree que el papel de la malonil-CoA y la MCD en estos tejidos es la regulación del metabolismo de los ácidos grasos. Esto se consigue mediante la inhibición por medio de la malonil-CoA de las isoformas de CPT-I del músculo (M) y el hígado (L), que están codificadas por genes distintos (McGarry y Brown, *Eur. J. Biochem.* 244:1-14 (1997)). La isoforma del músculo es más sensible a la inhibición por malonil-CoA (CI_{50} 0,03 μ M) que la isoforma del hígado (CI_{50} 2,5 μ M). La regulación por malonil-CoA de la CPTI-I se ha descrito en el hígado, el corazón, el músculo esquelético y las células β del páncreas. Además, también se ha descrito una actividad acil-CoA-transferasa sensible a malonil-CoA en microsomas, quizás como parte de un sistema que suministra grupos acilo al retículo endoplásmico (Fraser y col., *FEBS Lett.* 446:69-74 (1999)).

30 Enfermedades cardiovasculares

[0005] El corazón humano sano utiliza los sustratos metabólicos disponibles. Si la concentración de glucosa en la sangre es alta, la absorción y el metabolismo de la glucosa proporcionan la principal fuente de combustible para el corazón. En el estado de ayuno, los tejidos adiposos proporcionan lípidos y la absorción y el metabolismo de los ácidos grasos en el corazón regulan a la baja el metabolismo de la glucosa. La

regulación del metabolismo intermediario por la concentración de ácidos grasos y glucosa en el suero comprende el ciclo de la glucosa y los ácidos grasos (Randle y col., Lancet 1:785-789 (1963)). En condiciones de isquemia, el suministro limitado de oxígeno reduce la oxidación tanto de los ácidos grasos como de la glucosa y reduce la cantidad de ATP producido por fosforilación oxidativa en los tejidos cardíacos. En ausencia de oxígeno suficiente, la glicolisis aumenta en un intento de mantener la concentración de ATP, lo que resulta en una acumulación de lactato y una caída del pH intracelular. Se gasta energía en el mantenimiento de la homeostasis iónica y se produce la muerte celular de los miocitos, como resultado de unas concentraciones de ATP anormalmente bajas y de la alteración de la osmolaridad celular. Adicionalmente, la AMP-cinasa (AMPK), activada durante la isquemia, fosforila y de este modo inactiva la ACC. La concentración total cardíaca de malonil-CoA disminuye y, por lo tanto, la actividad de la CPT-I aumenta y se favorece la oxidación de los ácidos grasos sobre la oxidación de la glucosa. Los efectos beneficiosos de los moduladores metabólicos en el tejido cardíaco son la mayor eficiencia en la producción de ATP por mol de oxígeno para la glucosa, en comparación con los ácidos grasos y, de mayor importancia, el mejor acoplamiento de la glicolisis a la oxidación de la glucosa, con el resultado de una reducción neta de la carga protónica en el tejido isquémico.

[0006] Una serie de estudios clínicos y experimentales indican que el desplazamiento del metabolismo energético en el corazón hacia la oxidación de la glucosa es una estrategia eficaz para reducir los síntomas asociados con las enfermedades cardiovasculares, tales como la isquemia miocárdica, pero sin limitarse a esta (Hearse, "Metabolic approaches to ischemic heart disease and its management", Science Press). Algunos fármacos contra la angina probados clínicamente, como perhexilina y amiodarona, inhiben la oxidación de los ácidos grasos a través de la inhibición de la CPT-I (Kennedy y col., Biochem. Pharmacology 52:273 (1996)). Se ha demostrado que los fármacos contra la angina ranolazina, actualmente en ensayos clínicos de fase III, y trimetazidina inhiben la β -oxidación de los ácidos grasos (McCormack y col., Genet. Pharmac. 30:639 (1998); Pepine y col., Am. J. Cardiology 84:46 (1999)). Se ha demostrado que la trimetazidina inhibe específicamente la 3-cetoacil-CoA-tiolasa de cadena larga, una etapa esencial en la oxidación de los ácidos grasos (Kantor y col., Circ. Res. 86:580-588 (2000)). El dicloroacetato aumenta la oxidación de la glucosa mediante la estimulación del complejo de la piruvato-deshidrogenasa y mejora el funcionamiento cardíaco en aquellos pacientes con enfermedades coronarias (Wargovich y col., Am. J. Cardiol. 61:65-70 (1996)). La

inhibición de la actividad de la CPT-I a través del aumento de la concentración de malonil-CoA con inhibidores de la MCD resultaría en un procedimiento, no solamente nuevo, sino también mucho más seguro en comparación con otras moléculas pequeñas inhibitoras de la CPT-I conocidas, para la profilaxis y el tratamiento de las

5 enfermedades cardiovasculares.

[0007] La mayoría de las etapas implicadas en la síntesis de glicerol-lípidos tiene lugar en el lado citosólico de la membrana del retículo endoplásmico (RE) del hígado. La síntesis de triacilglicerol (TAG), destinado a ser secretado dentro del RE, a partir de diacilglicerol (DAG) y acil-CoA depende del transporte de acil-CoA a través de la

10 membrana del RE. Este transporte depende de una actividad acil-CoA-transferasa sensible a malonil-CoA (Zammit, *Biochem. J.* 343:505 (1999); Abo-Hashema, *Biochem.* 38:15840 (1999); Abo-Hashema, *J. Biol. Chem.* 274:35577 (1999)). La inhibición de la biosíntesis de TAG por un inhibidor de la MCD puede mejorar el perfil de lípidos de la sangre y, por lo tanto, reducir el riesgo de enfermedad coronaria

15 de los pacientes.

Diabetes

[0008] Las dos complicaciones metabólicas asociadas con mayor frecuencia con la diabetes son la hiperproducción hepática de cuerpos cetónicos (en la diabetes mellitus no dependiente de insulina, NIDDM) y la toxicidad orgánica asociada con

20 concentraciones constantemente elevadas de glucosa. La inhibición de la oxidación de los ácidos grasos puede regular la concentración de glucosa en la sangre y mejorar algunos síntomas de la diabetes de tipo II. La inhibición de la CPT-I por malonil-CoA es el mecanismo de regulación más importante que controla la tasa de oxidación de los ácidos grasos durante la aparición del estado de hipoinsulinemia-hiperglucagonemia.

25 Se han evaluado algunos inhibidores reversibles e irreversibles de la CPT-I en cuanto a su capacidad de controlar la concentración de glucosa en la sangre y todos ellos son invariablemente hipoglucémicos (Anderson, *Current Pharmaceutical Design* 4:1 (1998)). Un inhibidor de la CPT-I, reversible y específico del hígado, SDZ-CPI-975, disminuye significativamente la concentración de glucosa en primates no humanos y

30 ratas normales sometidos a un ayuno de 18 horas, sin inducir hipertrofia cardíaca (Deems y col., *Am. J. Physiology* 274:R524 (1998)). La malonil-CoA desempeña un papel significativo como detector de la disponibilidad relativa de glucosa y ácidos grasos en las células β del páncreas y, por lo tanto, enlaza el metabolismo de la glucosa con el estado energético celular y la secreción de insulina. Se ha demostrado que los

35 secretagogos de la insulina aumentan la concentración de malonil-CoA en las células β

(Prentki y col., Diabetes 45:273 (1996)). Sin embargo, el tratamiento de la diabetes directamente con inhibidores de la CPT-I resultó en toxicidades hepática y miocárdica de base mecanística. Por lo tanto, los inhibidores de la MCD que inhiben la CPT-I a través del aumento de su inhibidor endógeno, la malonil-CoA, son más seguros y superiores a los inhibidores de la CPT-I para el tratamiento de la diabetes.

Cánceres

[0009] Se ha sugerido que la malonil-CoA es un mediador potencial de la citotoxicidad inducida por la inhibición de la sintasa de ácidos grasos en células cancerosas mamarias humanas y aloinjertos (Pizer y col., Cancer Res. 60:213 (2000)). Se ha encontrado que la inhibición de la sintasa de ácidos grasos mediante el antibiótico antitumoral cerulenina o un análogo sintético, C75, aumenta considerablemente la concentración de malonil-CoA en las células de cáncer de mama. Por otro lado, el inhibidor de la síntesis de ácidos grasos, TOFA (ácido 5-(tetradeciloxi)-2-furoico), que solamente inhibe a nivel de la acetil-CoA-carboxilasa (ACC), no muestra ninguna actividad antitumoral, mientras que, al mismo tiempo, la concentración de malonil-CoA se reduce hasta un 60% de la del control. Se cree que el aumento de la concentración de malonil-CoA es responsable de la actividad antitumoral de estos inhibidores de la sintasa de ácidos grasos. Por lo tanto, la regulación de la concentración de malonil-CoA mediante inhibidores de la MCD constituye una estrategia terapéutica valiosa para el tratamiento de las enfermedades cancerosas.

Obesidad

[0010] Se ha sugerido que la malonil-CoA puede desempeñar un papel clave en la señalización del apetito en el cerebro, a través de la inhibición de la ruta del neuropéptido Y (Loftus y col., Science 288:2379 (2000)). El tratamiento sistémico o intracerebroventricular de ratones con los inhibidores de la sintasa de ácidos grasos (FAS) cerulenina o C75 condujo a la inhibición de la alimentación y a una drástica pérdida de peso. Se encontró que C75 inhibía la expresión del neuropéptido Y, que constituye una señal profágica, en el hipotálamo y que actuaba de manera independiente de la leptina, aparentemente mediada por malonil-CoA. Por lo tanto, el control de la concentración de malonil-CoA a través de la inhibición de la MCD proporciona una nueva estrategia para la profilaxis y el tratamiento de la obesidad.

[0011] Adicionalmente, estos compuestos son útiles también como herramientas de diagnóstico para enfermedades asociadas con una deficiencia o disfunción de la MCD.

El documento WO 03/051860 describe el uso de derivados de 5-hidroxibenzofurano para el tratamiento de cáncer, isquemia/lesión por reperfusión (por ejemplo, apoplejía, rechazo de trasplantes, infarto de miocardio, angina de pecho), diabetes, obesidad, insuficiencia cardíaca congestiva, etc.

5 El documento EP 165810 describe el uso de 5-hidroxibenzofuranos como agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades alérgicas, asma, trastornos cardiovasculares, inflamaciones, como analgésicos y como agentes citoprotectores.

Carneiro do Nascimento y col. (Pharmazie, VEB Verlag Volk und Gesundheit 1994, 49, 296) describen la actividad antitumoral de la *N,N*-
10 dimetilhidrazona de 5-hidroxi-3-metilbenzo[1,2-b]furan-2-carboxaldehído.

Bravo y col. (Gazzetta Chimica Italiana 1973, 103, 95) describen los compuestos (5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(4-metilfenil)metanona y (5-metoxi-1-benzofuran-2-il)(4-metilfenil)metanona.

El documento WO 97/08145 se refiere a derivados de benzofurano, en
15 particular a derivados que contienen un grupo (aminoiminometil)aminofenilo y a procedimientos para el uso de tales compuestos y composiciones como antagonistas de la integrina $\alpha_v\beta_3$.

Banskota y col. (J. Nat. Prod. 2000, 63, 1277) describen la actividad citotóxica del ácido (E)-3-[2,3-dihidro-2-(1-metiletenil)-7-prenil-5-benzofuranil]-2-
20 pro-penoico frente a las células de cáncer de colon murino y de fibrosarcoma humano.

El documento WO 00/38687 describe la {(S)-3-metil-1-[1-(1-metil-1H-imidazol-4-sulfonil)-3-oxoazepan-4-ilcar-bamoil]butil}amida del ácido 5-hidroxi-benzofurano-2-carboxílico como útil para el tratamiento, por ejemplo, de metástasis tumorales.

25 El documento US 5674876 describe fenoles sustituidos en posición *para* con heteroátomos, análogos de los mismos (como benzofuranos) y composiciones que contienen dichos compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades neoplásicas.

El documento WO 01/95911 proporciona compuestos de 4-aminoazepan-
30 3-ona y sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos que inhiben proteasas, como la catepsina K.

Los documentos EP 1215203 y WO 02/074296 describen derivados del ácido hidroxámico, tales como análogos de 5-hidroxibenzofuran-2-ilo, que inhiben la producción de IL-6 y su uso en varias enfermedades, como tumores sólidos, diabetes
35 mellitus, carcinoma de células renales, leucemia y mieloma múltiple.

El documento JP 2000128878 describe derivados de 5-hidroxibenzofuril- α -piridona, útiles como agentes mejoradores del metabolismo de los lípidos, como agentes preventivos de la arteriosclerosis y especialmente útiles como agentes inhibidores de la biosíntesis de triglicéridos, como agentes reductores de la
5 concentración de triglicéridos en la sangre o similares.

El documento JP 9124632 describe el uso de 5-hidroxibenzofuranos para la prevención y el tratamiento de enfermedades causadas por andrógenos, como hipertrofia prostática benigna, acné, seborrea, hipertrichosis femenina, calvicie masculina y cáncer de próstata.

10 El documento JP 7188227 describe derivados de tiazolidina y oxazol, tales como análogos de 5-hidroxibenzofurano, con efecto hipoglucémico y efecto circulatorio en la sangre y útiles como agentes para la prevención y el tratamiento de la diabetes y la hiperlipemia.

El documento SU 1681502 describe que el clorhidrato de 3-(2,5-
15 dimetoxibenzoil)-4-dimetilaminometil-5-hidroxi-6-bromobenzofurano tiene propiedades analgésicas, anestésicas locales, anticonvulsivas y antiarrítmicas y estimula los sistemas circulatorios coronario, cerebral y renal.

Chen y col. (Molecular Pharmacology 2001, 60, 1439) describen que 2-(3',4'-dihidroxifenil)-5-hidroxibenzo[b]furano bloquea el factor de necrosis tumoral y
20 podría servir como compuesto principal para el desarrollo de nuevos fármacos para la prevención o el tratamiento de las inflamaciones y el cáncer.

El documento WO 03/066618 describe el uso de derivados de 5-hidroxibenzofurano para el tratamiento, por ejemplo, de enfermedades o trastornos cardiovasculares, como fibrilación atrial, angina inestable, enfermedad coronaria,
25 enfermedad arterial periférica, vasculopatía de aloinjertos cardíacos (CAVD); mastitis; preeclampsia; enfermedades inflamatorias intestinales; apoplejía; infarto tisular; lumbociática; tratamiento hormonal sustitutivo con estrógenos y progesterona (THS); infecciones (bacteriana, vírica, por protozoos); meningitis bacteriana; traumas; cirugía; obesidad.

30 El compuesto 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-il)fenilmetanona y su preparación han sido descritos por Grinev y col. (Chemistry of Heterocyclic Compounds 1983, 1044).

RESUMEN DE LA INVENCION

[0012] La presente invención proporciona compuestos seleccionados del grupo
35 que consta de:

- (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(fenil) metanona;
 4,6-dibromo-*N*-(4-*terc*-butilfenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-2-carboxamida;
- 5 4,6-dibromo-*N*-(1,3-dioxolan-2-ilmetil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-pentil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[2-(dimetilamino)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
- 10 4,6-dibromo-*N*-[2-(dietilamino)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[3-(dimetilamino)propil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(2-metilfenil)-1-benzofuran-2-
- 15 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(4-metilfenil)-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(2-furilmetil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
- 20 4,6-dibromo-*N*-(2-clorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(4-clorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(1-naftilmetil)-1-benzofuran-2-
- 25 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(4-metoxifenil)-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;
- 30 4,6-dibromo-*N*-(3,4-diclorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil -1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3,4,5-trimetoxibencil)-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3-metilfenil)-1-benzofuran-2-
- 35 carboxamida;

4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(6-metoxipiridin-2-il)-*N*-metil-1-benzofuran-2-carboxamida;

3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)car-bonil]amino}-3-metilbutanoato de *terc*-butilo;

5 (5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(3-nitrofenil)metano-na;

4,6-dibromo-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-3-carboxamida;

4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-[4-(trifluorometoxi)fenil]-1-benzofuran-3-carboxamida;

10 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(4-metoxibencil)-1-benzofuran-3-carboxamida;

4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-1-benzofuran-3-carboxamida;

4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-[4-(trifluorometoxi)fenil]-1-benzofuran-3-carboxamida;

15 *N*-[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)carbo-nil]-*N*-isopropilglicinato de *terc*-butilo;

3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)car-bonil]amino}-3-metilbutanoato de *terc*-butilo;

N-[3-(dimetilamino)propil]-*N'*-etilimidocarbamato de (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)carbonilo;

20 (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(3-nitro-fenil)metanona;

3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)car-bonil]amino}butanoato de *terc*-butilo;

25 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(3-isopropoxipropil)-1-benzofuran-3-carboxamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos y composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0013] La descripción detallada de la invención que sigue se ha elegido y descrito para explicar de la mejor manera los detalles de la invención a otros expertos en la técnica.

[0014] Como se ha discutido anteriormente, numerosas enfermedades pueden tratarse por medio de una terapia relacionada con la MCD. Por consiguiente, los compuestos de esta invención pueden formularse en composiciones farmacéuticas para su uso en la profilaxis, la gestión y el tratamiento de estas enfermedades. Se usan

técnicas de formulación farmacéutica estándar, como las descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EE.UU.

[0015] Una “cantidad segura y terapéuticamente eficaz” de un compuesto útil en la presente invención es una cantidad que es eficaz para la inhibición de la MCD en el
5 sitio o sitios de actividad, en un sujeto, un tejido o una célula y, preferentemente, en un animal, con mayor preferencia en un mamífero, sin efectos secundarios adversos indebidos (como toxicidad, irritaciones o respuestas alérgicas), en correspondencia con una relación razonable entre beneficio y riesgo, al usarse en la manera de esta invención. Obviamente, la “cantidad segura y terapéuticamente eficaz” específica
10 variará con factores tales como la enfermedad particular que se trata, el estado físico del paciente, la duración del tratamiento, la naturaleza del tratamiento concurrente (si lo hubiere), la forma de dosificación específica que ha de usarse, el vehículo empleado, la solubilidad del compuesto en dicho vehículo y el régimen de dosificación deseado para la composición.

15 **[0016]** Además del compuesto seleccionado de la presente invención, las composiciones de la presente invención contienen un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en este documento, el término “vehículo farmacéuticamente aceptable” significa una o más cargas, diluyentes o sustancias de encapsulado sólidas o líquidas que son adecuadas para la administración a un
20 mamífero. El término “compatible”, tal como se usa en este documento, significa que los componentes de la composición son capaces de mezclarse con el compuesto en cuestión y entre sí, de manera que no existe una interacción que podría reducir sustancialmente la eficacia farmacéutica de la composición en las condiciones de uso ordinario. Por supuesto, los vehículos farmacéuticamente aceptables deben ser de una
25 pureza suficientemente alta y de una toxicidad suficientemente baja para que resulten adecuados para la administración preferentemente a un animal, preferentemente a un mamífero en tratamiento.

[0017] Algunos ejemplos de sustancias que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables o componentes de los mismos son azúcares, como
30 lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y metilcelulosa; goma tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; lubricantes sólidos, como ácido esteárico o estearato de magnesio; sulfato de calcio; aceites vegetales, como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de
35 oliva, aceite de maíz y aceite de teobroma; polioles como propilenglicol, glicerina,

sorbitol, manitol y polietilenglicol; ácido algínico; emulsionantes, como los Tween; humectantes, como laurilsulfato de sodio; colorantes; saborizantes; formadores de comprimidos, estabilizantes; antioxidantes; conservantes; agua sin agentes pirógenos; disolución salina isotónica; disoluciones tampón de fosfato.

5 **[0018]** La elección de un vehículo farmacéuticamente aceptable para usar conjuntamente con el compuesto en cuestión queda determinada básicamente por el modo en que el compuesto ha de administrarse.

[0019] Si el compuesto en cuestión ha de inyectarse, el vehículo farmacéuticamente aceptable preferido es una disolución salina fisiológica estéril con
10 un agente de suspensión compatible con la sangre, cuyo pH ha de ajustarse a aproximadamente 7,4. En particular, los vehículos farmacéuticamente aceptables para la administración por vía sistémica incluyen azúcares, almidones, celulosa y sus derivados, malta, gelatina, talco, sulfato de calcio, aceites vegetales, aceites sintéticos, polioles, ácido algínico, disoluciones tampón de fosfato, emulsionantes, disolución
15 salina isotónica y agua sin agentes pirógenos. Los vehículos preferidos para la administración por vía parenteral incluyen propilenglicol, oleato de etilo, pirrolidona, etanol y aceite de sésamo. Preferentemente, en las composiciones para administración por vía parenteral, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende al menos aproximadamente el 90% en peso de la composición total.

20 **[0020]** Las composiciones de esta invención se proporcionan preferentemente en una forma de dosificación unitaria. Tal como se usa en este documento, una “forma de dosificación unitaria” es una composición de esta invención que contiene una cantidad de un compuesto que es adecuada para la administración a un sujeto animal, preferentemente mamífero, en una dosis única, según la buena práctica médica. (Sin
25 embargo, la preparación de una forma de dosificación única o unitaria no implica que la forma de dosificación se administre una vez al día o una vez durante el curso del tratamiento. Estas formas de dosificación se contemplan para administrarse una, dos, tres o más veces al día y se espera que se administren más de una vez durante el curso del tratamiento, aunque no se excluye específicamente una administración única. El
30 experto en la técnica reconocerá que la formulación no contempla específicamente el curso total del tratamiento y que tales decisiones se dejan para los expertos en la técnica del tratamiento, más que de la formulación.) Preferentemente, estas composiciones contienen desde aproximadamente 5 mg (miligramos), con mayor preferencia desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 1.000 mg, con
35 mayor preferencia hasta aproximadamente 500 mg, con la máxima preferencia hasta

aproximadamente 300 mg del compuesto seleccionado.

[0021] Las composiciones de esta invención pueden estar en cualquiera de una diversidad de formas, adecuadas (por ejemplo) para la administración por vía oral, nasal, rectal, tópica (inclusive transdérmica), ocular, intracerebral, intravenosa, 5 intramuscular o parenteral. (El experto en la técnica apreciará que las composiciones orales y nasales comprenden composiciones que se administran por inhalación y que se preparan mediante el uso de las metodologías disponibles.) Dependiendo de la vía de administración particular deseada, puede usarse una diversidad de vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Estos incluyen cargas, 10 diluyentes, hidrótropos, agentes tensioactivos y sustancias de encapsulado sólidos o líquidos. Pueden incluirse otros materiales farmacéuticamente activos opcionales que no interfieran sustancialmente con la actividad inhibitoria del compuesto. La cantidad del vehículo empleado conjuntamente con el compuesto es suficiente para proporcionar una cantidad práctica de material para la administración por dosis unitaria 15 del compuesto. Las técnicas y las composiciones para la preparación de las formas de dosificación útiles en los procedimientos de esta invención se describen en las referencias siguientes: Modern Pharmaceutics, capítulos 9 y 10 (Banker & Rhodes, editores, 1979); Lieberman y col., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981); Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2.^a edición (1976).

20 **[0022]** Pueden usarse diversas formas de dosificación por vía oral, incluidas formas sólidas tales como comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos a granel. Estas formas orales comprenden una cantidad segura y eficaz del compuesto, normalmente al menos de aproximadamente el 5% y preferentemente de aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 50%. Los comprimidos pueden ser tales comprimidos o 25 triturados de comprimidos, presentar un recubrimiento entérico, de azúcar, de película o ser de compresión múltiple y contener aglutinantes, lubricantes, diluyentes, desintegrantes, colorantes, saborizantes, fluidificantes y fundentes adecuados. Las formas de dosificación por vía oral líquidas incluyen disoluciones acuosas, emulsiones, suspensiones, disoluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no 30 efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes que contienen disolventes, conservantes, emulsionantes, agentes de suspensión, diluyentes, edulcorantes, fundentes, colorantes y saborizantes adecuados.

[0023] El vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para la preparación de las formas de dosificación unitarias para administración por vía oral son bien 35 conocidos en la técnica. Típicamente, los comprimidos comprenden coadyuvantes

farmacéuticamente compatibles convencionales como diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, manitol, lactosa y celulosa; aglutinantes como almidón, gelatina y sacarosa; desintegrantes como almidón, ácido algínico y croscarmelosa; lubricantes como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco.

- 5 Pueden usarse deslizantes como dióxido de silicio para mejorar las características de flujo de la mezcla de polvo. Pueden añadirse colorantes, como los tintes FD&C por cuestión de aspecto. Los edulcorantes y saborizantes, como aspartamo, sacarina, mentol, pipermin y sabores de frutas son coadyuvantes útiles para los comprimidos masticables. Las cápsulas comprenden típicamente uno o más de los diluyentes sólidos
- 10 descritos anteriormente. La selección de los componentes del vehículo depende de consideraciones secundarias como el sabor, el coste y la estabilidad de almacenamiento, que no son críticas para el propósito de la presente invención y puede llevarse a cabo fácilmente por el experto en la técnica.

- [0024]** Las composiciones orales incluyen también disoluciones líquidas,
- 15 emulsiones, suspensiones y similares. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la preparación de tales composiciones son bien conocidos en la técnica. Los componentes típicos de los vehículos para jarabes, elixires, emulsiones y suspensiones incluyen etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, sacarosa líquida, sorbitol y agua. Los agentes de suspensión típicos para una suspensión
- 20 incluyen metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, AVICEL RC-591, goma tragacanto y alginato de sodio; los humectantes típicos incluyen lecitina y polisorbato 80 y los conservantes típicos incluyen metilparabeno y benzoato de sodio. Las composiciones líquidas orales pueden contener también uno o más componentes como los edulcorantes, saborizantes y colorantes descritos anteriormente.

- 25 **[0025]** Tales composiciones pueden recubrirse también por procedimientos convencionales, típicamente con recubrimientos dependientes del pH o del tiempo, de modo que el compuesto en cuestión se libere en el tracto gastrointestinal en proximidad de la aplicación tópica deseada o en diversos momentos para prolongar la acción deseada. Típicamente, estas formas de dosificación incluyen, pero sin limitarse
- 30 a estos, uno o más entre acetatoftalato de celulosa, acetatoftalato de polivinilo, ftalato de hidroxopropilmetilcelulosa, etilcelulosa, recubrimientos de Eudragit, ceras y goma laca.

[0026] Las composiciones de la presente invención pueden incluir opcionalmente otros principios activos farmacológicos.

- 35 **[0027]** Otras composiciones útiles para conseguir la administración por vía

sistémica de los compuestos en cuestión incluyen formas de dosificación sublinguales, bucales y nasales. Típicamente, estas composiciones comprenden una o más sustancias de carga solubles, como sacarosa, sorbitol y manitol; también aglutinantes como goma de acacia, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.

- 5 También pueden incluirse los deslizantes, lubricantes, edulcorantes, colorantes, antioxidantes y saborizantes descritos anteriormente.

[0028] Las composiciones de esta invención pueden administrarse también a un sujeto por vía tópica, por ejemplo, por aplicación directa o extensión de la composición sobre el tejido epidérmico o epitelial del sujeto o por vía transdérmica mediante un
10 parche. Estas composiciones incluyen, por ejemplo, lociones, cremas, disoluciones, geles y sólidos. Preferentemente, estas composiciones tópicas comprenden una cantidad segura y eficaz del compuesto, normalmente al menos de aproximadamente el 0,1% y, preferentemente, de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 5%. Preferentemente, los vehículos adecuados para la administración por vía tópica
15 permanecen en su sitio sobre la piel como una película continua y son resistentes a la eliminación por transpiración o por inmersión en agua. En general, el vehículo es de naturaleza orgánica y capaz de contener el compuesto disperso o disuelto. El vehículo puede incluir emolientes, emulsionantes, espesantes, disolventes y similares, farmacéuticamente aceptables.

20 PROCEDIMIENTOS DE ADMINISTRACIÓN

[0029] Los compuestos y composiciones de esta invención pueden administrarse por vía tópica o por vía sistémica. La administración por vía sistémica incluye cualquier procedimiento de introducción de un compuesto en los tejidos del cuerpo, por ejemplo, la administración por vía intraarticular, intratecal, epidural, intramuscular,
25 transdérmica, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, sublingual, de inhalación, rectal u oral. Para la administración de los compuestos de la presente invención se prefiere la vía oral.

[0030] La dosis específica del compuesto que se administra, así como la duración del tratamiento deben ser individualizadas por los médicos responsables del
30 tratamiento. Típicamente, para un adulto humano (que pese aproximadamente 70 kilogramos), se administran diariamente desde 5 mg, preferentemente desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 3.000 mg, con mayor preferencia hasta aproximadamente 1.000, con mayor preferencia hasta 300 mg del compuesto seleccionado. Se entiende que estos intervalos de dosificación son solamente un
35 ejemplo y que la administración diaria puede ajustarse en función de los factores

expuestos anteriormente.

[0031] Por supuesto, en todo lo anterior, los compuestos de la presente invención pueden administrarse en solitario o como mezclas y las composiciones pueden contener además otros fármacos adicionales o excipientes según sea apropiado para la indicación. Por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares se contempla claramente que la invención puede usarse conjuntamente con betabloqueantes, antagonistas de calcio, inhibidores de la ACE, diuréticos, inhibidores de los receptores de angiotensina o fármacos o tratamientos cardiovasculares conocidos. Por lo tanto, en este ejemplo, los compuestos o composiciones de esta invención son útiles cuando se dosifican junto con otro principio activo y pueden combinarse en una única forma de dosificación o composición.

[0032] La administración de estas composiciones puede llevarse a cabo también mediante sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

DEFINICIONES

[0033] Tal como se usa en este documento, “alquilo” significa un sustituyente alcano, alqueno o alquino de cadena lineal que contiene solamente carbono e hidrógeno, como metilo, etilo, butilo, pentilo, heptilo y similares. Los grupos alquilo pueden estar saturados o insaturados (es decir, contener enlaces $-C=C-$ o $-C\equiv C-$) en una o varias posiciones. Cuando se prefiere un grado específico de insaturación, se hace referencia a dicho sustituyente bien como “alqueno” o como “alquino”, lo que indica sustituyentes que contienen enlaces $-C=C-$ o $-C\equiv C-$, respectivamente. El número de carbonos puede indicarse como “alquilo C_i-C_j ”, en que i y j se refieren al número mínimo y máximo de átomos de carbono, respectivamente. Típicamente, los grupos alquilo comprenderán de uno a doce átomos de carbono, preferentemente de uno a diez y, con mayor preferencia, de dos a ocho átomos de carbono.

[0034] Tal como se usa en este documento, “alquilo sustituido” significa un sustituyente hidrocarburo que es lineal, cíclico o ramificado, en el que uno o más átomos de hidrógeno están sustituidos por carboxi, hidroxilo, alcoxi, ciano, nitro, carbonilo, arilo, carboxialquilo, mercapto, amino, amido, ureido, carbamoilo, sulfonamido, sulfamido o halógeno. Los alquilos sustituidos preferidos tienen espaciadores alquilo (es decir, la porción que es alquilo) de uno a aproximadamente cinco carbonos y pueden ser ramificados o lineales y pueden incluir sustituyentes

cíclicos, como parte o como el total de su estructura. Algunos ejemplos preferidos de “alquilos sustituidos” incluyen 4-carboxibutilo, piridin-2-ilmetilo y 1,3-tiazol-2-ilmetilo, bencilo, fenetilo y trifluorometilo. El término “alquilo sustituido” puede combinarse con otros términos aceptados en la técnica. Por ejemplo, “alcoxi sustituido” significa alcoxi, tal como se entiende en la técnica, en que la porción alquilo del sustituyente está sustituida.

[0035] Tal como se usa en este documento, “alquilo ramificado” significa un subgrupo de “alquilo” y, por lo tanto, es un sustituyente hidrocarburo que es ramificado. Los alquilos ramificados preferidos tienen de tres hasta aproximadamente doce carbonos y pueden incluir un cicloalquilo en su estructura. Algunos ejemplos de alquilos ramificados incluyen isopropilo, isobutilo, 1,2-dimetilpropilo, ciclopentilmetilo y similares. El término “alquilo ramificado” puede combinarse con otros términos aceptados en la técnica. Por ejemplo, “alcoxi ramificado” significa alcoxi tal como se entiende en la técnica, en que la porción alquilo del sustituyente es ramificada.

[0036] Tal como se usa en este documento, “cicloalquilo” es un sustituyente hidrocarburo que es cíclico y que puede estar sustituido o sin sustituir. En caso de estar sustituido, uno o más de los átomos de hidrógeno están sustituidos por carboxi, hidroxi, alcoxi, ciano, nitro, carbonilo, arilo, carboxialquilo, mercapto, amino, amido, ureido, carbamoilo, sulfonamido, sulfamido o halógeno. Los alquilos cíclicos preferidos tienen de tres a aproximadamente siete carbonos. Algunos ejemplos de cicloalquilos incluyen ciclopropilo, ciclopentilo, 4-fluorociclohexilo, 2,3-dihidroxíciclopentilo y similares.

[0037] Tal como se usa en este documento, “alquilenos” es un resto alquilo doble, es decir, un alquilo que tiene valencias libres en dos átomos de carbono diferentes. Por lo tanto, “(alquilenos) R_i ” es un resto alquilo doble unido a un carbono y con un sustituyente R_i unido a otro carbono que puede estar a uno o más carbonos de distancia del punto de unión. Los alquilenos pueden ser lineales, ramificados o cíclicos. Algunos ejemplos de alquilenos incluyen $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-(CH_2)_4-$, $-(ciclohexilo)-$ y similares.

[0038] Tal como se usa en este documento, “arilo” es un resto aromático, es decir, se aplica la regla de Hückel $4n + 2$, sustituido o sin sustituir, que tiene un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo o antranilo), que puede contener de ninguno a cuatro heteroátomos. Por lo tanto, el término “heteroarilo” se contempla claramente dentro del término “arilo”. El arilo carbocíclico

preferido es fenilo. Los heterociclos monocíclicos preferidos, es decir, heteroarilos, son anillos de cinco a seis miembros. Preferentemente, si el término “arilo” representa un heterociclo aromático, se hace referencia a este como “heteroarilo” o “heteroaromático” y tiene uno o más heteroátomos. El número preferido de tales

5 heteroátomos es de uno a tres átomos de N y, preferentemente, cuando “heteroarilo” es un heterociclo de cinco miembros, tiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, N o S. Por lo tanto, los heterociclos preferidos tienen hasta tres, preferentemente dos o menos heteroátomos presentes en el anillo aromático. El experto en la técnica reconocerá que entre los heteroarilos hay anillos con cinco y seis miembros. Algunos

10 ejemplos de “heteroarilo” incluyen tienilo, piridilo, pirimidilo, piridazilo, furilo, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxadiazililo, triazinilo, triazolilo, tiadiazolilo y otros que el experto en la técnica reconocerá. En esta definición se contempla claramente que la sustitución en el anillo de arilo se encuentra dentro del alcance de esta invención. Si se produce una sustitución, se hace referencia al resto como “arilo

15 sustituido”. Preferentemente hay de uno a tres, con mayor preferencia uno o dos y con la máxima preferencia un sustituyente unido al anillo de arilo. Aunque muchos sustituyentes serán útiles, los sustituyentes preferidos incluyen aquellos que se encuentran normalmente en compuestos de arilo, como alquilo, hidroxilo, alcoxi, ciano, nitro, halógeno, haloalquilo, mercapto y similares. Tales sustituyentes se preparan

20 mediante metodologías conocidas. Estos sustituyentes pueden estar unidos en diversas posiciones del anillo de arilo y en caso de que se prefiera una posición dada, dicha posición se indica por “*o,m,p*-R_i-arilo”. Por lo tanto, si el sustituyente R_i está unido en la posición *para* del arilo, esto se indica como “arilo *p*-R_i-sustituido”.

[0039] Tal como se usa en este documento, “amida” incluye RNR’CO- (en el caso de que R = alquilo, alquilaminocarbonilo-) y RCONR’- (en el caso de que R = alquilo, alquilcarbonilamino-).

[0040] Tal como se usa en este documento, “éster” incluye ROCO- (en el caso de que R = alquilo, alcóxicarbonilo-) y RCOO- (en el caso de que R = alquilo, alquilcarboniloxi-).

30 **[0041]** Tal como se usa en este documento, “halógeno” es un resto atómico de cloro, bromo, flúor o yodo. Los halógenos preferidos son cloro, bromo y flúor. El término “halógeno” contempla también términos a los que a veces se hace referencia como “halo” o “haluro”.

[0042] Tal como se usa en este documento, “alquilamino” es un resto amino en el

35 que al menos un átomo de hidrógeno en el nitrógeno ha sido sustituido por alquilo. Los

ejemplos preferidos incluyen etilamino, butilamino, isopropilamino y similares. El componente alquilo puede ser lineal, ramificado, cíclico, sustituido, saturado o insaturado.

[0043] Tal como se usa en este documento, “alquilsulfanilo” es un resto tiol en el que el átomo de hidrógeno en el azufre ha sido sustituido por alquilo. Los ejemplos preferidos incluyen etilsulfanilo, butilsulfanilo, isopropilsulfanilo y similares. El componente alquilo puede ser lineal, ramificado, cíclico, sustituido, saturado o insaturado.

[0044] Tal como se usa en este documento, “alcoxi” es un resto hidroxilo en el que el átomo de hidrógeno en el oxígeno ha sido sustituido por alquilo. Los ejemplos preferidos incluyen etoxi, butoxi, benciloxi y similares. El componente alquilo puede ser lineal, ramificado, cíclico, sustituido, saturado o insaturado.

[0045] Tal como se usa en este documento, “heterociclo(s)” significa sistemas de anillos, preferentemente de tres a siete miembros que están saturados o insaturados y que no son aromáticos. Estos pueden estar sustituidos o sin sustituir y están unidos a otras partes de la molécula a través de cualquier valencia disponible, preferentemente cualquier carbono o nitrógeno disponible. Los heterociclos más preferidos tienen cinco a seis miembros. En heterociclos monocíclicos de seis miembros, el heteroátomo o los heteroátomos son de uno a tres O, S o N y si el heterociclo es de cinco miembros, preferentemente tiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, N o S.

[0046] Tal como se usa en este documento, “heterociclilo” significa restos heterocíclicos. Estos pueden estar sustituidos o sin sustituir y están unidos a otros a través de cualquier valencia disponible, preferentemente cualquier carbono o nitrógeno disponible.

[0047] Tal como se usa en este documento, “sulfamido” significa un grupo alquil-N-S(O)₂N-, aril-NS(O)₂N- o heterociclil-NS(O)₂N-, en que el grupo alquilo, arilo o heterociclilo es tal como se ha definido anteriormente en este documento.

[0048] Tal como se usa en este documento, “sulfonamido” significa un grupo alquil-S(O)₂N-, aril-S(O)₂N- o heterociclil-S(O)₂N-, en que el grupo alquilo, arilo o heterociclilo es tal como se ha definido anteriormente en este documento.

[0049] Tal como se usa en este documento, “ureido” significa un grupo alquil-NCON-, aril-NCON- o heterociclil-NCON-, en que el grupo alquilo, arilo o heterociclilo es tal como se ha definido anteriormente en este documento.

[0050] Los compuestos y composiciones en este documento contemplan también específicamente sales farmacéuticamente aceptables, ya sean catiónicas o aniónicas.

Una “sal farmacéuticamente aceptable” es una sal aniónica formada en cualquier grupo ácido (por ejemplo, carboxilo) o una sal catiónica formada en cualquier grupo básico (por ejemplo, amino). En la técnica se conocen muchas de estas sales, como se describe en la Publicación de Patente Mundial 87/05297, Johnston y col., publicada el 5 11 de septiembre de 1987. Los contraiones preferidos de las sales formables en grupos ácidos pueden incluir cationes de sales tales como las sales de metal alcalino (como sodio o potasio) y las sales de metal alcalinotérreo (como magnesio y calcio) y sales orgánicas. Las sales preferidas formables en los sitios básicos incluyen aniones tales como los haluros (como las sales de cloro). Por supuesto, el experto en la técnica es 10 consciente de que puede usarse un gran número y diversidad de sales y en la bibliografía existen ejemplos de sales orgánicas o inorgánicas útiles de este modo.

[0051] Dado que los compuestos útiles en esta invención pueden contener uno o más centros estereogénicos, los términos “isómero óptico”, “estereoisómero”, “enantiómero”, diastereómero”, tal como se usan en este documento tienen los 15 significados estándar reconocidos en la técnica (véase Hawleys Condensed Chemical Dictionary, 11.^a edición) y se incluyen en estos compuestos ya sea como racematos o como sus isómeros ópticos, estereoisómeros, enantiómeros y diastereómeros.

[0052] Tal como se usa en este documento, el término “enfermedad metabólica” significa un grupo de trastornos identificados en los que se producen errores del 20 metabolismo, desequilibrios del metabolismo o un metabolismo subóptimo. Las enfermedades metabólicas tal como se usan en este documento contemplan también una enfermedad que puede tratarse mediante la modulación del metabolismo, aunque la enfermedad misma puede estar causada o no por un bloqueo específico del metabolismo. Preferentemente, tal enfermedad metabólica implica la ruta de oxidación 25 de la glucosa y los ácidos grasos. Con mayor preferencia, tal enfermedad metabólica implica la MCD o se modula por la concentración de malonil-CoA y en este documento se hace referencia a la misma como un “trastorno relacionado con la MCD o la MCA”.

PREPARACIÓN DE COMPUESTOS

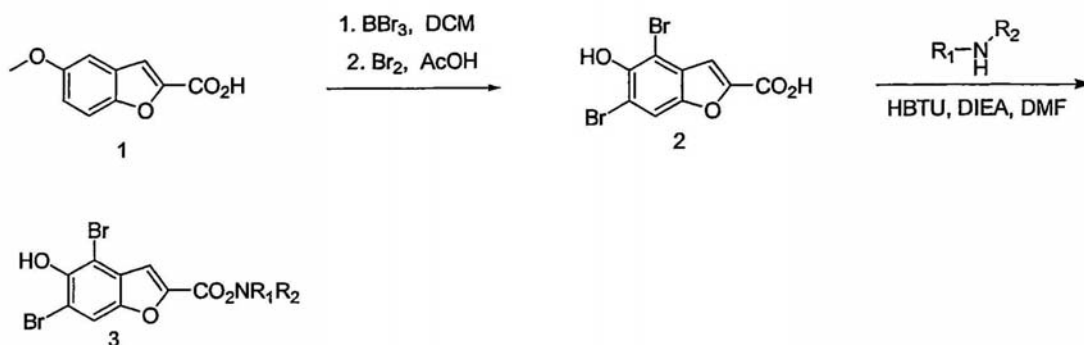
30 **[0053]** Los materiales de partida usados en la preparación de los compuestos de esta invención son conocidos, se preparan por procedimientos conocidos o están disponibles en el comercio. Será evidente para el experto en la técnica que los procedimientos para la preparación de los precursores y la funcionalidad relativa a los compuestos reivindicados en este documento, por lo general, se describen en la 35 bibliografía. Teniendo en cuenta la bibliografía y esta descripción, el experto en la

técnica está bien equipado para preparar cualquiera de estos compuestos.

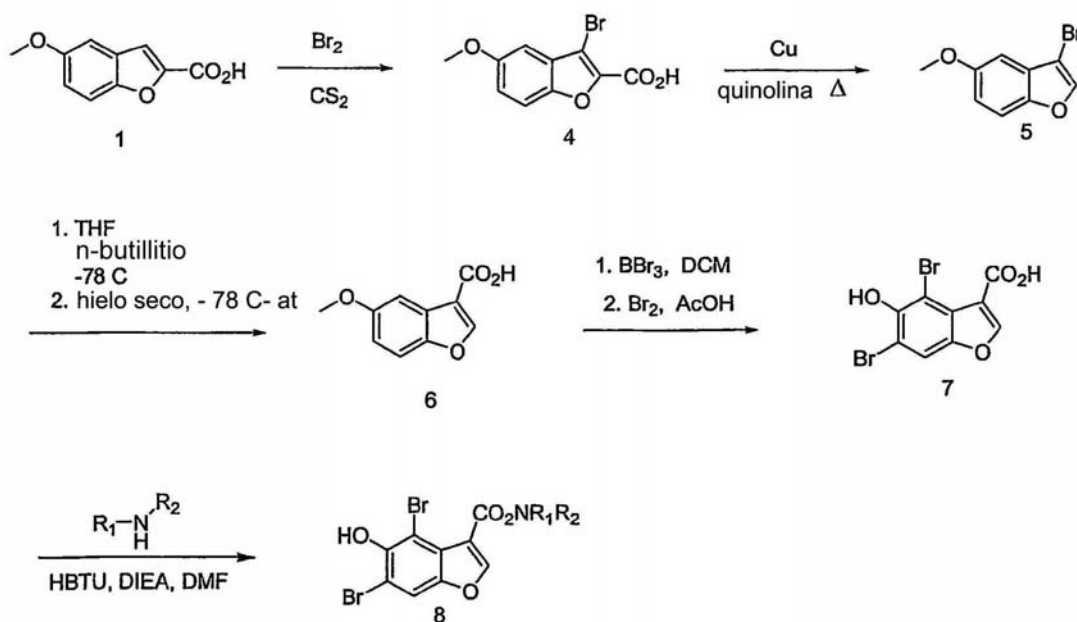
[0054] Se reconoce que el experto en la técnica de la química orgánica puede llevar a cabo manipulaciones fácilmente sin necesidad de más dirección, es decir que llevar a cabo estas manipulaciones se halla dentro de los alcances y la práctica del
5 experto en la técnica. Estas incluyen la reducción de compuestos de carbonilo a sus alcoholes correspondientes, la alquilación reductiva de aminas, oxidaciones, acilaciones, sustituciones aromáticas tanto electrófilas como nucleófilas, eterificaciones, esterificación, saponificación y similares. Estas manipulaciones se discuten en textos estándar como Advanced Organic Chemistry (Wiley) de March,
10 Advanced Organic Chemistry de Carey y Sundberg y similares.

[0055] El experto en la técnica apreciará rápidamente que ciertas reacciones se realizan mejor cuando se protege o enmascara otra funcionalidad en la molécula, lo que evita cualquier reacción secundaria no deseada y/o aumenta el rendimiento de la reacción. Con frecuencia, el experto en la técnica utiliza grupos protectores para
15 conseguir un aumento tal del rendimiento o para evitar las reacciones no deseadas. Estas reacciones se encuentran en la bibliografía y se hallan también dentro de los alcances del experto en la técnica. Algunos ejemplos de muchas de estas manipulaciones pueden encontrarse, por ejemplo en la publicación de T. Greene y P. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, 2.^a edición, John Wiley and Sons
20 (1991).

[0056] Los esquemas ejemplares siguientes se proporcionan como guía para el lector y representan procedimientos preferidos para la preparación de los compuestos ejemplificados en este documento. Estos procedimientos no son limitantes y será evidente que es posible emplear otras rutas para preparar estos compuestos. Tales
25 procedimientos incluyen específicamente técnicas químicas de fase sólida y química combinatoria. El experto en la técnica está perfectamente equipado para preparar estos compuestos por aquellos procedimientos teniendo en cuenta la bibliografía y esta descripción.

Esquema 1

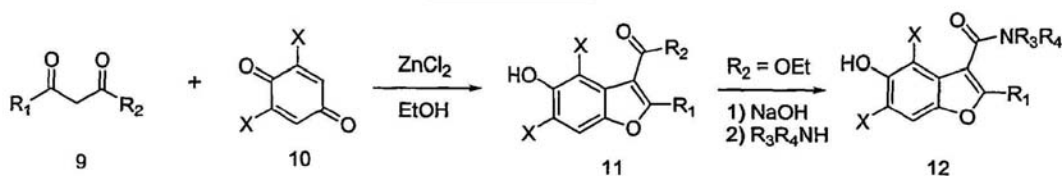
[0057] Como se muestra en el esquema anterior, el tratamiento de benzofurano-O-metiléter (1) con boruro de tribromo en diclorometano proporcionó el compuesto 5-hidroxilbenzofurano libre 2 que, acoplado a una amina primaria o secundaria en las 5 condiciones convencionales de acoplamiento peptídico, dio lugar a los derivados 2-carboxamida deseados 3.

Esquema 2

El esquema 2 ilustra la síntesis de carboxamidas C-3. A partir del mismo material de partida 1, se produjo una bromación en la posición C-3 en presencia de bromo y con CS₂ como disolvente. La decarboxilación del grupo ácido carboxílico en

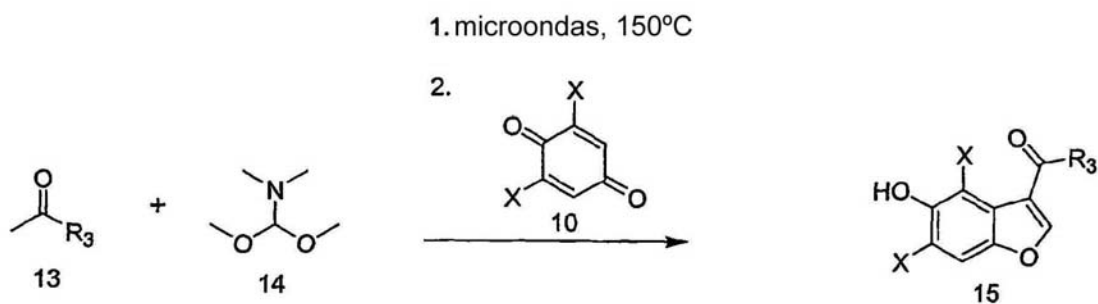
C-2 se consiguió en las condiciones convencionales (Cu y quinolina) para proporcionar el compuesto 3-bromo-5-metoxibenzofurano 5 con buen rendimiento. El compuesto 5 se trató posteriormente con n-butilitio, seguido de hielo seco para dar lugar al compuesto ácido carboxílico C-3 6. Siguiendo la secuencia del esquema 1, el compuesto intermedio 6 se transformó en las correspondientes carboxamidas C-3 8.

Esquema 3



Alternativamente, los compuestos carboxamida C-3 sustituidos en C-2 12 pudieron prepararse por el procedimiento mostrado en el esquema 3 (Giza, Hinman, J. Org. Chem., 1964, 29:1453). En presencia de un ácido de Lewis, (por ejemplo, ZnCl_2), la β -dicetona o el β -cetoéster 9 se acopló con los derivados de quinona 10 para proporcionar los derivados cetona C-3 sustituidos en C-2 deseados en una etapa. O cuando $\text{R}_2 = \text{OEt}$, el carboxilato C-3 se saponificó para dar lugar al ácido carboxílico correspondiente que, posteriormente, se transformó en los correspondientes derivados amida 12.

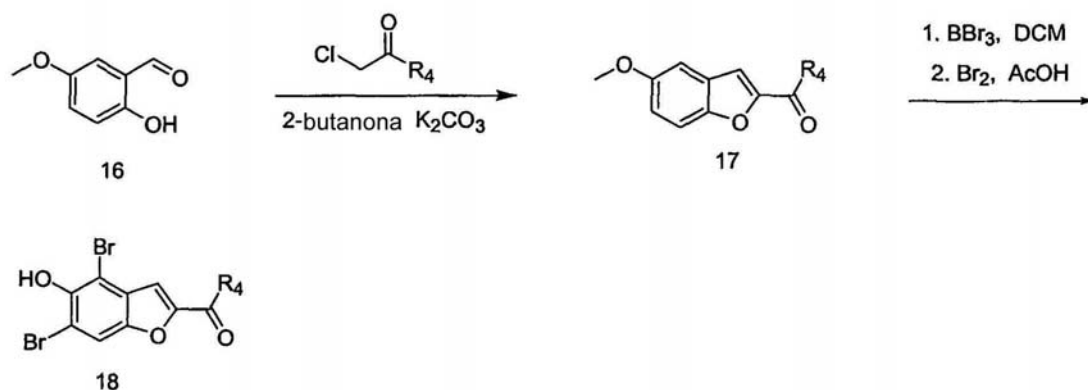
Esquema 4



15

Un procedimiento similar se empleó para preparar cetoderivados C-3 sin sustituir en C-2. La metilcetona 13 se transformó fácilmente en el intermedio enamina correspondiente mediante calentamiento con microondas. Después, el intermedio se acopló con el derivado de quinona 10 para proporcionar los compuestos cetona C-3 deseados.

20

Esquema 5

Por otro lado, se prepararon derivados cetona C-2 mediante el procedimiento ilustrado en el esquema 5. La formación del anillo del *o*-5 hidroxibenzaldehído 16 con α -clorometilcetona en presencia de una base débil como K_2CO_3 condujo al intermedio cetona C-2 de benzofurano 17. La posterior eliminación del grupo protector metoxi y la bromación en las posiciones C-4 y C-6 resultaron en el producto final 18.

ENSAYO DE INHIBICIÓN DE LA MCD IN VITRO

- 10 **[0058]** La transformación de acetil-CoA desde malonil-CoA se evaluó mediante un protocolo modificado tal como ha sido descrito previamente por Kim, Y. S. y Kolattukudy, P. E. en 1978 (Arch. Biochem. Biophys. 190:585 (1978)). Tal como se muestra en las ecuaciones 1-3, el establecimiento del equilibrio cinético entre malato/NAD y oxalacetato/NADH fue catalizado por la deshidrogenasa málica
- 15 (ecuación 2). El producto de la reacción enzimática de la MCD, acetil-CoA, desplazó el equilibrio al condensarse con oxalacetato en presencia de citrato-sintasa (ecuación 3), lo que resultó en una generación continua de NADH a partir de NAD. La acumulación de NADH puede seguirse de manera continua mediante la monitorización del aumento de la emisión de fluorescencia a 460 nm en un lector de placas de
- 20 fluorescencia. El lector de placas de fluorescencia se calibró mediante acetil-CoA pura de Sigma. Para un ensayo típico en placa de 96 pocillos, el aumento de la emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 460 \text{ nm}$, para NADH) en cada pocillo se usó para calcular la velocidad inicial de la MCD humana (hMCD). Cada ensayo de 50 μl contenía tampón de fosfato salino (Sigma) 10 mM, pH 7,4, Tween-20 al 0,05%,
- 25 $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ (Sigma) 25 mM, malato (Sigma) 2 mM, NAD (Boehringer

Mannheim) 2 mM, 0,786 unidades de MD (Roche Chemicals), 0,028 unidades de CS (Roche Chemicals), hMCD 5-10 nM y diversas cantidades del sustrato MCA. Los ensayos se iniciaron por la adición de MCA y las velocidades se corrigieron por la velocidad de fondo en ausencia de hMCD.

5 PROTOCOLO DE ENSAYO DE CORAZÓN DE RATA EN FUNCIONAMIENTO AISLADO

[0059] Se someten corazones en funcionamiento aislados de ratas Sprague-Dawley macho (300-350 g) a un período de perfusión aeróbica de 60 minutos. Los corazones en funcionamiento se perfunden con O₂ al 95%, CO₂ al 5%, con una
10 disolución de Krebs-Henseleit modificada que contiene glucosa 5 mM, 100 µU/ml de insulina, BSA sin ácidos grasos al 3%, Ca²⁺ libre 2,5 mM y de 0,4 a 1,2 mmol/l de palmitato (Kantor y col., Circulation Research 86:580-588 (2000)). El compuesto de ensayo se añade 5 minutos antes del período de perfusión. Como control se usa DMSO (0,05%).

15 MEDIDA DE LAS VELOCIDADES DE OXIDACIÓN DE LA GLUCOSA

[0060] Se tomaron muestras a intervalos de 10 minutos para medidas de parámetros experimentales. Las velocidades de oxidación de la glucosa se determinaron mediante la recogida cuantitativa del ¹⁴CO₂ producido por los corazones perfundidos con un tampón que contenía [U¹⁴]-glucosa (R. Barr y G. Lopaschuk, en
20 “Measurement of cardiovascular function”, McNeill, J. H. ed., capítulo 2, CRC Press, Nueva York (1997)). Después de la perfusión, el ¹⁴CO₂ del perfundido se liberó posteriormente mediante la inyección de 1 ml de perfundido en un tubo de ensayo sellado que contenía 1 ml de H₂SO₄ 9N. El tubo se selló con un tapón de goma unido a un vial de centelleo que contenía una pieza de papel de filtro saturado con 300 µl de
25 hidróxido de hiamina. Después, los viales de centelleo con los papeles de filtro se retiraron y se les añadió líquido de centelleo Ecolite. Las muestras se sometieron a recuento por procedimientos estándar, como se ha descrito anteriormente. Las velocidades medias de oxidación de la glucosa para cada fase de perfusión se expresan como µmol por min y g de peso seco tal como se ha descrito anteriormente.

30 MEDIDA DE LAS VELOCIDADES DE OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

[0061] Las velocidades de oxidación de los ácidos grasos se determinaron por el mismo procedimiento que se ha descrito anteriormente para la medida de la velocidad de oxidación de la glucosa con [¹⁴C]palmitato o por la recogida cuantitativa del ³H₂O producida por corazones perfundidos con un tampón que contenía [5-³H]palmitato (R.
35 Barr y G. Lopaschuk, en “Measurement of cardiovascular function”, McNeill, J. H.

ed., capítulo 2, CRC Press, Nueva York (1997)). El $^3\text{H}_2\text{O}$ se separó del $[5-^3\text{H}]$ palmitato mediante el tratamiento de muestras de tampón de 0,5 ml con 1,88 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (1:2 v:v) y la adición posterior de 0,625 ml de cloroformo y 0,625 ml de una disolución de KCl/HCl 2M. La muestra se centrifugó durante 10 min y la fase acuosa se retiró y se trató con una mezcla de 1 ml de cloroformo, 1 ml de metanol y 0,9 ml de KCl/HCl en una proporción de 1:1:0,9. La fase acuosa se sometió entonces a recuento para la determinación del $^3\text{H}_2\text{O}$ total. Este procedimiento resultó en la extracción y separación de más del 99,7% del $^3\text{H}_2\text{O}$ del palmitato. Las velocidades medias de oxidación de los ácidos grasos para cada fase de perfusión se expresan como nmol por min y g de peso seco después de considerar el factor de dilución.

[0062] Los compuestos activos se caracterizan por un aumento de la oxidación de la glucosa y/o disminución de la oxidación de los ácidos grasos en comparación con los experimentos de control (DMSO). Los compuestos que causaron aumentos estadísticamente significativos de la oxidación de la glucosa y/o disminución de la oxidación de los ácidos grasos se consideran activos. La significación estadística se calculó mediante la prueba de la t de Student para muestras apareadas o no apareadas, según fuera apropiado. Se considera que los resultados con $P < 0,05$ son estadísticamente significativos.

Tabla I. Actividades inhibitorias enzimáticas *in vitro*

Ejemplos	Ki (nM)
CBP-000022880	33,5
CBP-000022880	35,7
CBP-000022902	998,1
CBM-000302109	450
CBM-000302150	121
CBM-000302151	1296,9
CBM-000302164	3293,8
CBM-000302272	3692,3
CBM-000302300	1653,1
CBM-000302301	315,1
CBM-000302323	1561,7
CBM-000302324	2326,1
CBM-000302325	4392,9

CBM-000302331	299,2
CBM-000302332	3696,2
CBM-000302333	3433,1
CBM-000302335	919,4
CBM-000302336	2808,2
CBM-000302349	1704,9
CBM-000302351	2911,3
CBM-000302352	3821
CBM-000302364	4512
CBM-000302366	2499,9
CBM-000302381	94,4
CBM-000302382	1431,1
CBM-000302383	1753,6
CBM-000302401	224,5
CBM-000302402	195,7
CBM-000302403	4655,1
CBM-000302416	2477,1
CBM-000302417	1649,1
CBM-000302418	2158,9
CBM-000302420	50,6
CBM-000302421	3208,8
CBM-000302423	1590,5
CBM-000302437	3804,3
CBM-000302441	31,6
CBM-000302448	3425,2
CBM-000302450	3338,2
CBM-000302452	4671,2
CBM-000302453	5326,3
CBM-000302454	1990,1
CBM-000302455	4144,3
CBM-000302456	1116,7
CBM-000302457	2343,3
CBM-000302477	2094,7
CBM-000302478	208,9

CBM-000302494	755,9
CBM-000302496	1982,6
CBM-000302497	2080,8
CBM-000302498	616,2
CBM-000302499	1664,8
CBM-000302501	4812
CBM-000302502	3666,6
CBM-000302503	269,1
CBM-000302505	4750,2
CBM-000302507	681,1
CBM-000302508	26,7
CBM-000302512	1149,9
CBM-000302513	3318,8
CBM-000302528	3630,3
CBM-000302529	1965,7

EJEMPLOS

[0063] Para ilustrar mejor esta invención se incluyen los siguientes ejemplos. Las variaciones de estos ejemplos dentro del alcance de las reivindicaciones entran dentro del ámbito de un experto en la técnica y se consideran dentro del alcance de la invención tal como se describe y se reivindica en este documento. El lector reconocerá que el experto en la técnica, equipado con la presente divulgación y experiencia en la técnica es capaz de preparar y usar la invención sin necesidad de ejemplos exhaustivos.

[0064] Las marcas comerciales usadas en este documento son solamente ejemplos y reflejan materiales ilustrativos usados en el momento de la invención. El experto en la técnica reconocerá que son de esperar variaciones del lote, el proceso de fabricación y similares. Por lo tanto, los ejemplos y las marcas comerciales usadas en ellos no son limitantes y no se pretende que sean limitantes, sino que son solamente una ilustración de cómo un experto en la técnica puede elegir llevar a cabo una o más de las realizaciones de la invención.

[0065] Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H se miden en CDCl_3 u otros disolventes, según se indica, mediante un espectrómetro de RMN Varian (Unity Plus 400, 400 MHz para ^1H), a menos que se indique lo contrario, y las posiciones de los picos se expresan en partes por millón (ppm) a partir de tetrametilsilano. Las formas de los picos se designan de la manera siguiente: s,

singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuádruplete; m, multiplete.

[0066] Las abreviaturas siguientes tienen los significados indicados:

- Ac = acetilo
- Bn = bencilo
- 5 Bz = benzoilo
- CCF = cromatografía en capa fina
- CDI = carbonildiimidazol
- CH₂Cl₂ = diclorometano
- DIBAL = hidruro de diisobutilaluminio
- 10 DMAP = 4-(dimetilamino)piridina
- DMF = *N,N*-dimetilformamida
- DMSO = dimetilsulfóxido
- EDCI o ECAC = clorhidrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida
- 15 EM-ESI = espectrometría de masas por electropulverización
- Et₃N = trietilamina
- EtOAc = acetato de etilo
- HMTA = hexametilentetramina
- LDA = diisopropilamida de litio
- 20 LHDMS = bis(trimetilsilil)amida de litio
- MgSO₄ = sulfato de magnesio
- NaH = hidruro de sodio
- NBS = *N*-bromosuccinimida
- NCS = *N*-clorosuccinimida
- 25 NH₄Cl = cloruro de amonio
- Ph = fenilo
- Py = piridinilo
- r.t. = temperatura ambiente
- TFA = ácido trifluoroacético
- 30 THF = tetrahidrofurano
- Tf₂O = anhídrido triflico
- Abreviaturas de grupos alquilo:
- Me = metilo
- Et = etilo
- 35 n-Pr = propilo normal

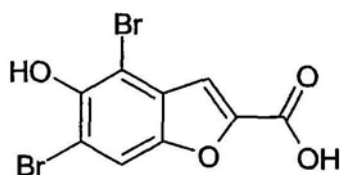
i-Pr = isopropilo
 n-Bu = butilo normal
 i-Bu = isobutilo
 t-Bu = butilo terciario
 s-Bu = butilo secundario
 c-Hex = ciclohexilo

5

Ejemplo 1

Preparación de 4,6-dibromo-2-carboxi-5-hidroxibenzofurano

[0067]



10

Etapla 1: Preparación de 2-carboxi-5-hidroxibenzofurano.

[0068] El compuesto 2-carboxi-5-metoxibenzofurano (1,0 g, 5,2 mmol) se disolvió en diclorometano anhidro (25 ml) y se enfrió a -78°C . Se añadió lentamente una disolución de tribromuro de boro (15,6 ml) 1M en diclorometano. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 4 horas. La disolución se inactivó con cloruro de amonio acuoso (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. Se obtuvieron 0,9 g (100%) de producto bruto. RMN ^1H (CD_3OD) δ = 6,84 (dd, 1H), 6,95 (d, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,32 (d, 1H).

15

20

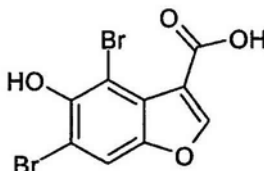
Etapla 2: Preparación de 4,6-dibromo-2-carboxi-5-hidroxibenzofurano.

[0069] Se disolvieron 2-carboxi-5-hidroxibenzofurano (980 mg, 5,50 mmol) y acetato de potasio (1,10 g, 11,21 mmol) en ácido acético (30 ml) y la disolución se enfrió a 0°C . Se disolvió bromo (845 μl , 16,50 mmol) en ácido acético (2 ml) y se añadió lentamente a la disolución anterior. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 2,5 horas. Después se añadió agua (20 ml) a la disolución y la reacción se inactivó mediante la adición de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (260 mg). La disolución acuosa se extrajo con dietiléter y la fase orgánica se lavó con tiosulfato de sodio acuoso y se secó con sulfato de sodio. La concentración a vacío produjo un sólido tostado que se lavó con hexanos para dar 1,04 g (56%). RMN ^1H (CD_3OD) δ = 7,39 (s, 1H), 7,82 (s, 1H).

25

30

Ejemplo 2

Preparación de 4,6-dibromo-3-carboxi-5-hidroxibenzofurano**[0070]**

Etapa 1: preparación de 3-bromo-2-carboxi-5-metoxibenzofurano.

- 5 **[0071]** Se suspendió 2-carboxi-5-metoxibenzofurano (2,00 g, 10,41 mmol) en disulfuro de carbono (70 ml) y se añadió bromo (1,18 ml, 22,96 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 48 horas. El producto bruto se aisló por evaporación del disolvente a vacío: 2,64 g (96%). RMN ^1H (CD_3OD) δ = 3,94 (s, 3H), 7,28 (d, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,57 (d, 1H).

- 10 Etapa 2: preparación de 3-bromo-5-metoxibenzofurano.

- [0072]** Se combinaron 3-bromo-2-carboxi-5-metoxibenzo-furano (1,36 g, 5,02 mmol), cobre en polvo (371 mg, 5,84 mmol) y quinolina (16 ml) y se calentaron a 210°C durante 0,5 horas. Después de que la mezcla se hubo enfriado a temperatura ambiente se eliminaron los sólidos por filtración a través de celita. El filtrado se diluyó
15 con diclorometano y se lavó tres veces con ácido clorhídrico acuoso 1M, una vez con bicarbonato de sodio y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio, se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna (gel de SiO_2 , 6:1 hexanos/acetato de etilo) para dar 708 mg (62%). RMN ^1H (CDCl_3) δ = 3,94 (s, 3H), 6,79 (d, 1H), 6,96 (s, 1H), 7,34 (dd, 1H), 7,64 (d, 1H).

- 20 Etapa 3: preparación de 3-carboxi-5-metoxibenzofurano.

- [0073]** Una disolución de n-butilitio (5,6 ml, 2,24 mmol) 2,5 M en hexanos se añadió gota a gota a una disolución de 3-bromo-5-metoxibenzofurano (483 mg, 2,13 mmol) en THF anhidro a -78°C. La mezcla de reacción enfriada se agitó durante 0,5 horas en atmósfera de nitrógeno. Se añadió $\text{CO}_2(\text{s})$ en polvo y la mezcla se agitó
25 durante otras 0,5 horas antes de dejar que se calentara a temperatura ambiente. Después de 0,5 horas, la reacción se inactivó con ácido clorhídrico acuoso 2 M, se concentró a vacío y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. La purificación por CCF preparativa (3:2 hexanos/acetato de etilo) produjo 113 mg (9%). RMN ^1H (CD_3OD) δ = 3,84 (s, 3H), 6,94 (dd, 1H),
30 7,42 (d, 1H), 7,49 (d, 1H), 8,35 (s, 1H).

Etapa 4: preparación de 3-carboxi-5-hidroxibenzofurano.

[0074] El compuesto 3-carboxi-5-metoxibenzofurano (128 mg, 0,666 mmol) se disolvió en diclorometano anhidro (25 ml) y se enfrió a -78°C . Se añadió lentamente una disolución de tribromuro de boro (15,6 ml) 1M en diclorometano. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 3 horas. La disolución se inactivó con cloruro de amonio acuoso (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. Se obtuvieron 106 g (89%) de producto bruto. RMN ^1H (CD_3OD) δ = 6,84 (dd, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,39 (d, 1H), 8,32 (s, 1H).

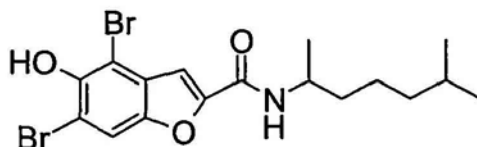
Etapas 5: preparación de 4,6-dibromo-3-carboxi-5-hidroxibenzofurano.

[0075] Se disolvieron 3-carboxi-5-hidroxibenzofurano (100 mg, 0,561 mmol) y acetato de potasio (83 mg, 0,842 mmol) en ácido acético (10 ml) y la disolución se enfrió a 0°C . Se añadió lentamente bromo (86 μl , 1,680 mmol) a la disolución anterior y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, agitando durante 3 horas. La reacción se inactivó con tiosulfato de sodio acuoso, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. La concentración a vacío produjo un sólido tostado que se lavó con hexanos para dar 155 mg (82%). RMN ^1H (CD_3OD) δ = 7,83 (s, 1H), 8,37 (s, 1H).

Ejemplo 3

Preparación de N-alkil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-carboxamidas

[0076]



Etapas 1: preparación de N-1,5-dimetilhexil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-carboxamida.

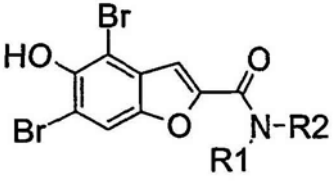
[0077] Se combinaron 4,6-dibromo-2-carboxi-5-hidroxi-benzofurano (16 mg, 0,048 mmol), 1,5-dimetilhexilamina (9 mg, 0,052 mmol), HBTU (33 mg, 0,062 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (26 μl , 0,144 mmol) en DMF (2 ml) a 0°C . La mezcla se agitó durante 2 horas, se concentró a vacío y se purificó por CCF preparativa (50% de acetato de etilo, 50% de hexanos) para dar 3,5 mg (16%). RMN ^1H (CDCl_3) δ = 0,84 (m, 6H), 1,09-1,36 (m, 5H), 1,50-1,60 (m, 5H), 4,09 (m, 1H), 6,29 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,64 (s, 1H).

Ejemplo 4

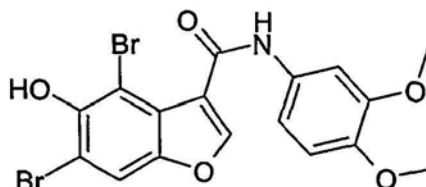
Preparación de *N*-alquil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-carboxamidas

[0078] Todos los compuestos relacionados en la tabla 1 se prepararon según el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores.

Tabla 1. *N*-alquil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-carboxamidas

		
Ejemplos	R1	R2
4-1	1-Me-2-(CO ₂ tBu)-etilo	H
4-2	1,5-dimetilhexilo	H
4-3	ciclohexilmetilo	H
4-4	4-(3-Me-pentil)-Ph	H
4-5	4-(4,4,4-trifluorobutil)-Ph	H
4-6	OMe	Me
4-7	4-[CH ₂ (CO ₂ Et)]-Ph	H
4-8	2-(CO ₂ tBu)-etilo	H
4-9	1-iPr-2-(CO ₂ tBu)-etilo	H
4-10	2,5-diMeO-PhCH ₂	H
4-11	2,5-diMeO-PhCH ₂ CH ₂	H
4-12	4-nBuO-Ph	H
4-13	furan-2-ilmetilo	H
4-14	2,5-diMeO-PhCONH	H
4-15	Ph	Me
4-16	4-(CO ₂ Me)-Ph	Me
4-17	(CO ₂ tBu)CH ₂	Me
4-18	ciclohexilo	H
4-19	3,4,5-triMeO-Ph	H
4-20	4-Me-Ph	H
4-21	Ph	H
4-22	4-(NCCH ₂)-Ph	H
4-23	3,5-diBr-4-OH-Ph	H
4-24	PhCH ₂ CH ₂	Me

4-25	Ph	iPr
4-26	PhCH ₂	Me
4-27	iBu	Me
4-28	(CO ₂ Et)CH ₂	Me
4-29	(CO ₂ tBu)CH ₂	H
4-30	4-MeO-Ph	Me
4-31	4-CF ₃ -PhCH ₂	Me
4-32	4-CF ₃ O-PhCH ₂	Me
4-33	4-(CO ₂ Me)-PhCH ₂	Me
4-34	(CO ₂ tBu)CH ₂	tBu
4-35	3,5-diMeO-Ph	H
4-36	(CO ₂ tBu)CH ₂	iPr
4-37	2,5-diMeO-Ph	H
4-38	2,3-diMeO-Ph	H
4-39	4-tBu-Ph	H
4-40	3,4-diMeO-Ph	H
4-41	1,3-dioxolanilmetilo	Me
4-42	n-pentilo	Me
4-43	2-(<i>N,N</i> -dimetil)etilo	Me
4-44	2-(<i>N,N</i> -dietil)etilo	Me
4-45	2-(<i>N,N</i> -dimetil)propilo	Me
4-46	2-Cl-Ph	Me
4-47	4-Cl-Ph	Me
4-48	2-Me-Ph	Me
4-49	4-Me-Ph	Me
4-50	furan-2-ilmetilo	Me
4-51	naftalilo	Me
4-52	4-MeO-Ph	Me
4-53	3,4-diMeO-PhCH ₂ CH ₂	Me
4-54	3,4-diCl-Ph	Me
4-55	3,4,5-triMeO-PhCH ₂	Me
4-56	3-Me-Ph	Me
4-57	2-(6-MeO)-piridinilo	Me
4-58	1,1-dimetil-2-(CO ₂ tBu)-etilo	H

Ejemplo 5Preparación de *N*-alquil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofurano-3-carboxamidas**[0079]**

5 Etapa 1: preparación de *N*-(3,4-dimetoxifenil)-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-carboxamida.

[0080] Se combinaron 4,6-dibromo-3-carboxi-5-hidroxi-benzofurano (60 mg, 0,179 mmol), 3,4-dimetoxianilina (27 mg, 0,179 mmol) y EDC (41 mg, 0,215 mmol) en THF (5 ml) y se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con agua, se extrajo
 10 con acetato de etilo, se secó con sulfato de sodio y se concentró a vacío. El material bruto se purificó por CCF preparativa (2:1 hexanos/acetato de etilo) para dar 9 mg (23%). RMN ¹H (CDCl₃) δ = 3,87 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 5,96 (s, 1H), 6,83 (d, 1H), 6,99 (d, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,72 (m, 2H), 8,05 (s, 1H); EM-ESI: *m/z* 470 (M-H).

Ejemplo 6

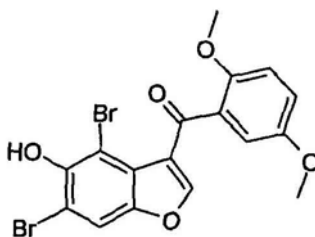
15 Preparación de *N*-alquil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-carboxamidas

[0081] Todos los compuestos relacionados en la tabla 2 se prepararon según el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores.

Tabla 2. *N*-alquil-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-carboxamidas

		
Ejemplos	R1	R2
6-1	(CO ₂ tBu)-metilo	Me
6-2	Ph	H
6-3	4-(CO ₂ Me)-Ph	Me
6-4	3,4,5-triMeO-Ph	H
6-5	3,5-diMeO-Ph	H
6-6	3,4-diMeO-Ph	H

6-7	4-CF ₃ O-Ph	Me
6-8	4-CF ₃ O-PhCH ₂	H
6-9	3,4,5-triMeO-PhCH ₂	Me
6-10		H
6-11	(CO ₂ tBu)-metilo	iPr
6-12	2-[2-Me-(CO ₂ tBu)]-etilo	H
6-13	2-(CO ₂ tBu)-etilo	H
6-14	3-(iPrO)-propilo	H

Ejemplo 7Preparación de 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-cetonas**[0082]**

5 Etapa 1: preparación de 4,6-dibromo-3-(2,5-dimetoxibenzoil)-5-hidroxibenzofurano.

[0083] Los compuestos *N,N*-dimetilformamidadimetilacetal (141 μ l, 1,06 mmol) y 2,5-dimetoxiacetofenona (161 μ l, 1,01 mmol) se sometieron conjuntamente a microondas a 150°C durante 2 horas. Se añadió 2,6-dibromo-*p*-benzoquinona (266 mg, 1,00 mmol) en ácido acético (0,5 ml) y la mezcla se agitó durante la noche. La reacción se concentró a vacío y se purificó por CCF preparativa (50% de acetato de etilo, 50% de hexanos) para dar 37 mg (8%). RMN ¹H (CD₃OD) δ = 3,55 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 6,90 (s, 1H), 7,03 (d, 1H), 7,16 (m, 2H), 7,81 (s, 1H), 8,01 (s, 1H); EM-ESI: *m/z* 455 (M-H).

15 Ejemplo 8Preparación de 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-cetonas

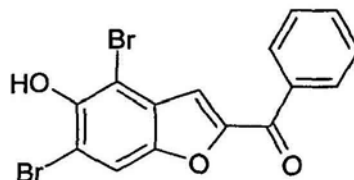
[0084] Todos los compuestos relacionados en la tabla 3 se prepararon según el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores.

Tabla 3. 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-3-cetonas

Ejemplo	R1
8-1	2,5-diMeO-Ph

8-2	Ph
8-3	2-F-5-CF ₃ -Ph
8-4	2-OH-5-Br-Ph
8-5	3,4,5-triMeO-Ph
8-6	1-naftilo
8-7	3,5-diMeO-Ph
8-8	1,4-benzodioxan-6-ilo
8-9	4-Me-Ph
8-10	4-MeO-Ph
8-11	4-tBu-Ph
8-12	3-MeO-Ph
8-13	2-piridinilo
8-14	2-(4-MeO-PhO)-Et
8-15	Me
8-16	3-NO ₂ -Ph
8-17	2-Br-Ph
8-18	3,5-di(PhCH ₂ O)-Ph
8-19	4-CF ₃ -Ph
8-20	4-F-Ph
8-21	4-(PhSO ₂)-Ph
8-22	4-piridinilo
8-23	3-piridinilo
8-24	4-Cl-Ph
8-25	3-Cl-Ph
8-26	6-[1,3-tiazol(3,2-A)piridinona]
8-27	2-(3-Me-benzotiofeno)
8-28	2-(1,2,4-triazol-1-il)etilo
8-29	indol-3-ilo
8-30	N-Me-1,3-tiazol-2-amina

Ejemplo 9Preparación de 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-cetonas**[0085]**



Etapla 1: preparación de 2-benzoyl-5-metoxibenzofurano.

[0086] Los compuestos 2-hidroxi-5-metoxibenzaldehído (164 μ l, 1,31 mmol), α -cloroacetofenona (203 mg, 1,31 mmol) y carbonato de potasio (217 mg, 1,57 mmol) se calentaron en 2-butanona (10 ml) a 80°C durante 7 horas. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo. La disolución orgánica se lavó dos veces con hidróxido de sodio acuoso 2 M, una vez con salmuera y se secó con sulfato de sodio para dar 315 mg (95%) de producto bruto. RMN ^1H (CDCl_3) δ = 3,87 (s, 3H), 7,12 (s, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,53-7,56 (m, 3H), 7,65 (m, 1H), 8,04 (d, 2H).

10 Etapla 2: preparación de 2-benzoyl-5-hidroxibenzofurano.

[0087] El compuesto 2-benzoyl-5-metoxibenzofurano (100 mg, 0,396 mmol) se disolvió en diclorometano anhidro (10 ml) y se enfrió a -78°C. Se añadió lentamente una disolución de tribromuro de boro (1,2 ml) 1M en diclorometano. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 3 horas. La disolución se inactivó con cloruro de amonio acuoso (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. Se obtuvieron 69 mg (73%) de producto bruto. RMN ^1H (CD_3OD) δ = 7,04 (dd, 1H), 7,09 (d, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,67 (m, 1H), 8,01 (m, 2H).

20 Etapla 3: preparación de 2-benzoyl-4,6-dibromo-5-hidroxibenzofurano.

[0088] Se disolvieron 2-benzoyl-5-hidroxibenzofurano (60 mg, 0,252 mmol) y acetato de potasio (37 mg, 0,378 mmol) en ácido acético (10 ml) y la disolución se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente bromo (39 μ l, 0,756 mmol) a la disolución anterior y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, agitando durante 3 horas. La reacción se inactivó con tiosulfato de sodio acuoso, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio. La concentración a vacío produjo un sólido tostado que se lavó con hexanos para dar 7 mg (7%). RMN ^1H (CDCl_3) δ = 5,91 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,57 (t ap., 2H), 7,68 (t ap., 1H), 7,81 (s, 1H), 8,03 (m, 2H). EM-ESI: m/z 395 (M-H).

30 Ejemplo 10

Preparación de 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-cetonas

[0089] Todos los compuestos relacionados en la tabla 4 se prepararon según el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores.

Tabla 4. 4,6-dibromo-5-hidroxibenzofuran-2-cetonas

Ejemplos	R1
10-1	4-Me-Ph (ejemplo comparativo)
10-2	Ph
10-3	3-NO ₂ -Ph

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado del grupo que consta de:
 (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(fenil) metanona;
 5 4,6-dibromo-*N*-(4-*terc*-butilfenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(1,3-dioxolan-2-ilmetil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 10 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-pentil-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[2-(dimetilamino)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[2-(dietilamino)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 15 4,6-dibromo-*N*-[3-(dimetilamino)propil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-
 2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(2-metilfenil)-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(4-metilfenil)-1-benzofuran-2-
 20 carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(2-furilmetil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(2-clorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 25 4,6-dibromo-*N*-(4-clorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(1-naftilmetil)-1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(4-metoxifenil)-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 30 carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]-5-hidroxi-*N*-metil-1-
 benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-*N*-(3,4-diclorofenil)-5-hidroxi-*N*-metil -1-benzofuran-2-
 carboxamida;
 35 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-1-benzofuran-2-

- carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3-metilfenil)-1-benzofuran-2-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(6-metoxipiridin-2-il)-*N*-metil-1-benzofuran-2-
 5 carboxamida;
 3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)car-bonil]amino}-3-metilbutanoato de *terc*-butilo;
 (5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(3-nitrofenil)metano-na;
 4,6-dibromo-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-5-hidroxi-1-benzofuran-3-
 10 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-[4-(trifluorometoxi)fenil]-1-benzofuran-3-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(4-metoxibencil)-1-benzofuran-3-carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-metil-*N*-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-1-benzofuran-3-
 15 carboxamida;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-[4-(trifluorometoxi)fenil]-1-benzofuran-3-carboxamida;
N-[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)carbo-nil]-*N*-isopropilglicinato de *terc*-butilo;
 20 3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)car-bonil]amino}-3-metilbutanoato de *terc*-butilo;
N-[3-(dimetilamino)propil]-*N'*-etilimidocarbamato de (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)carbonilo;
 (4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-2-il)(3-nitro-fenil)metanona;
 25 3-{[(4,6-dibromo-5-hidroxi-1-benzofuran-3-il)car-bonil]amino}butanoato de *terc*-butilo;
 4,6-dibromo-5-hidroxi-*N*-(3-isopropoxipropil)-1-benzofuran-3-carboxamida;
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
 30
2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante está prevista únicamente para ayudar al lector y no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha puesto el
 5 máximo cuidado en su realización, no se pueden excluir errores u omisiones y la OEP declina cualquier responsabilidad al respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- 10 • WO 03051860 A [0011]
- EP 165810 A [0011]
- WO 9708145 A [0011]
- WO 0038687 A [0011]
- US 5674876 A [0011]
- 15 • WO 0195911 A [0011]
- EP 1215203 A [0011]
- WO 02074296 A [0011]
- JP 2000128878 B [0011]
- JP 9124632 B [0011]
- 20 • JP 7188227 B [0011]
- SU 1681502 [0011]
- WO 03066618 A [0011]
- WO 8705297 A, Johnston [0050]

25 Documentos no procedentes de patentes citados en la descripción

- An et al. J. Biochem. Mol. Biol., 1999, vol. 32, 414-418 [0002]
- Buckner et al. Arch. Biochem. Biophys., 1976, vol. 177, 539 [0002]
- Kim ; Kolattukudy. Arch. Biochem. Biophys., 1978, vol. 190, 585 [0002]
- 30 • Kim ; Kolattukudy. Arch. Biochem. Biophys., 1978, vol. 190, 234 [0002]
- Kim ; Kolattukudy. Biochim. Biophys. Acta, 1978, vol. 531, 187 [0002]
- Voilley et al. Biochem. J., 1999, vol. 340, 213 [0002]
- Jang et al. J. Biol. Chem., 1989, vol. 264, 3500 [0002]
- Gao et al. J. Lipid. Res., 1999, vol. 40, 178 [0002]
- 35 • Sacksteder et al. J. Biol. Chem., 1999, vol. 274, 24461 [0002]
- FitzPatrick et al. Am. J. Hum. Genet., 1999, vol. 65, 318 [0002]
- Zammit. Biochem. J., 1999, vol. 343, 5050-515 [0003]
- Alam ; Saggerson. Biochem J., 1998, vol. 334, 233-241 [0003]
- Dyck et al. Am J Physiology, 1998, vol. 275, H2122-2129 [0003]
- 40 • McGarry ; Brown. Eur. J. Biochem., 1997, vol. 244, 1-14 [0004]
- Fraser et al. FEBS Lett., 1999, vol. 446, 69-74 [0004]
- Randle et al. Lancet, 1963, vol. 1, 785-789 [0005]
- Hearse. Metabolic approaches to ischemic heart disease and its management. Science Press [0006]

- Kennedy et al. Biochem. Pharmacology, 1996, vol. 52, 273 [0006]
- McCormack et al. Genet. Pharmac., 1998, vol. 30, 639 [0006]
- Pepine et al. Am. J. Cardiology, 1999, vol. 84, 46 [0006]
- Kantor et al. Circ. Res., 2000, vol. 86, 580-588 [0006]
- 5 • Wargovich et al. Am. J. Cardiol., 1996, vol. 61, 65-70 [0006]
- Zammit. Biochem. J., 1999, vol. 343, 505 [0007]
- Abo-Hashema. Biochem., 1999, vol. 38, 15840 [0007]
- Abo-Hashema. J. Biol. Chem., 1999, vol. 274, 35577 [0007]
- Anderson. Current Pharmaceutical Design, 1998, vol. 4, 1 [0008]
- 10 • Deemset al. Am. J. Physiology, 1998, vol. 274, R524 [0008]
- Prentki et al. Diabetes, 1996, vol. 45, 273 [0008]
- Pizer et al. Cancer Res., 2000, vol. 60, 213 [0009]
- Loftus et al. Science, 2000, vol. 288, 2379 [0010]
- Carneiro do Nascimento et al. Pharmazie, Veb Verlag Volk und Gesundheit, 1994,
- 15 vol. 49, 296 [0011]
- Bravo et al. Gazzetta Chimica Italiana, 1973, vol. 103, 95 [0011]
- Banskota et al. J. Nat. Prod, 2000, vol. 63, 1277 [0011]
- Chen. Molecular Pharmacology, 2001, vol. 60, 1439 [0011]
- Grinev et al. Chemistry of Heterocyclic Compounds, 1983, 1044 [0011]
- 20 • Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Company [0014]
- Modern Pharmaceutics. 1979 [0021]
- Lieberman et al. Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, 1981 [0021]
- Ansel. Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms. 1976 [0021]
- T. Greene ; P. Wuts. Protecting Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons,
- 25 1991 [0055]
- Giza ; Hinman. J. Org. Chem., 1964, vol. 29, 1453 [0057]
- Kim, Y. S. ; Kolattukudy, P. E. Arch. Biochem. Biophys, 1978, vol. 190, 585 [0058]
- Kantor et al. Circulation Research, 2000, vol. 86, 580-588 [0059]
- R. Barr ; G. Lopaschuk. Measurement of cardiovascular function. CRC press, 1997
- 30 [0060] [0061]