

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 025 468**

51 Int. Cl.:

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.12.2019** **PCT/US2019/064960**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2020** **WO20118194**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2019** **E 19893204 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.04.2025** **EP 3890733**

54 Título: **Inhibidores de proteína cinasas activadas por mitógenos p38 en sitios no ATP/catalíticos**

30 Prioridad:

07.12.2018 US 201862776837 P

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

09.06.2025

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE
(100.00%)
Office of Research and Development, 620 W.
Lexington Street, 4th Floor
Baltimore, MD 21201, US**

72 Inventor/es:

**SHAPIRO, PAUL S.;
MACKERELL, ALEXANDER D. JR.;
HASDAY, JEFFREY D. y
FLETCHER, STEVEN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 3 025 468 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 proteína cinasas activadas por mitógenos p38 en sitios no ATP/catalíticos

5 Esta solicitud es una solicitud de continuación de la Solicitud de los EE. UU. N.º 16/872.114 presentada el 11 de mayo de 2020, ahora permitida, que es una solicitud de continuación a tenor de 35 U.S.C. § 111 de la Solicitud internacional N.º PCT/US2019/064960 presentada el 6 de diciembre de 2019, que reivindica el beneficio a tenor de 35 U.S.C. § 119(e) de la Solicitud provisional de los EE. UU. N.º 62/776.837 presentada el 7 de diciembre de 2018.

10 Campo de la invención

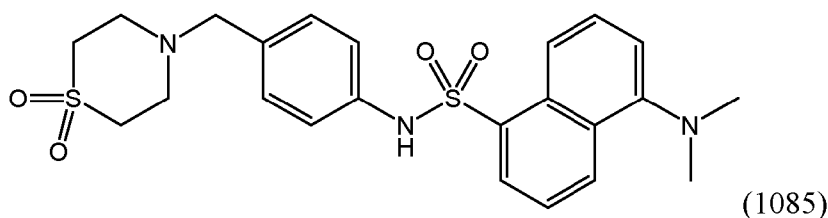
La invención se refiere en general a compuestos que son inhibidores de proteínas de Proteína cinasas activadas por mitógenos p38 (MAPK), y en particular, pero no exclusivamente, a compuestos que inhiben la proteína MAPK p38α uniéndose a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de MAPK p38α, y dichos compuestos para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades.

Antecedentes de la invención

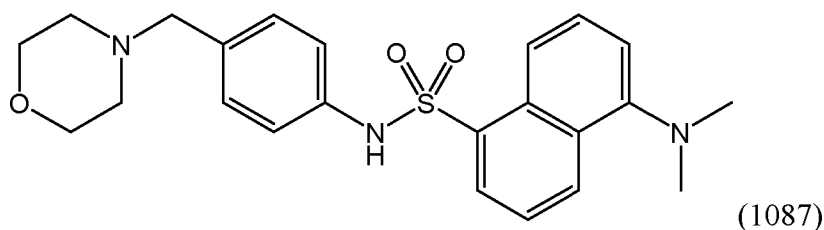
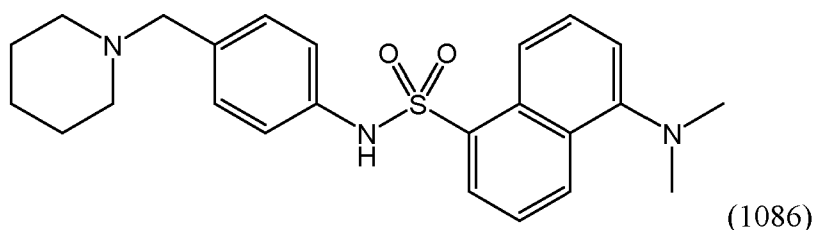
20 Las Proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK) p38 contribuyen a la patogenia de muchas enfermedades, pero los inhibidores catalíticos de p38 actualmente disponibles (por ejemplo, SB203580) son poco eficaces y provocan toxicidad debido posiblemente a la actividad contra isoformas no inflamatorias de p38 (por ejemplo, p38B) y a la pérdida de respuestas contrarreguladoras dependientes de p38α (por ejemplo, MSK1/2). En consecuencia, se necesitan nuevas terapias y métodos de tratamiento en el campo tanto para abordar la inhibición selectiva de MAPK p38α como para bloquear selectivamente determinadas funciones de MAPK p38α con el fin de conservar las funciones contrarreguladoras y homeostáticas críticas con aplicación para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y oncológicas.

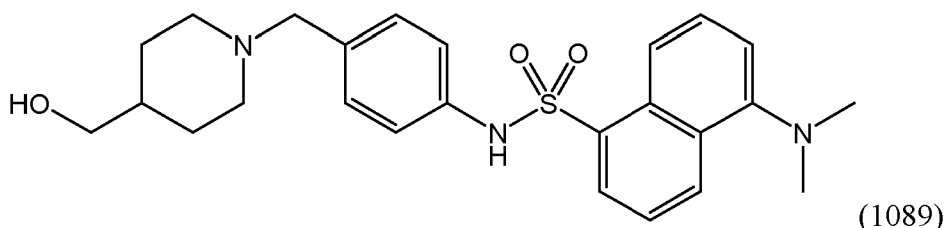
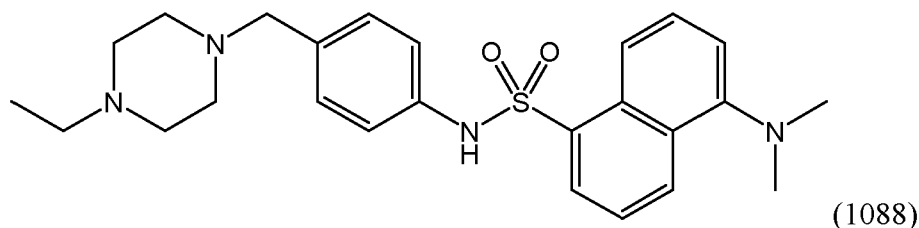
Sumario de la invención

30 En un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto seleccionado de un compuesto de Fórmula (1085), Fórmula (1086), Fórmula (1087), Fórmula (1088), Fórmula (1089), y una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores:



35





5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con el primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con el primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con el primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad inflamatoria en un paciente, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesión pulmonar aguda (LPA).

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad inflamatoria en un paciente, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesión pulmonar aguda (LPA).

25 Otras características de la presente invención se establecen en las reivindicaciones dependientes.

Breve descripción de los dibujos

30 El sumario anterior, así como la siguiente descripción detallada de realizaciones de la invención, se entenderán mejor al leerlos junto con los dibujos y las figuras adjuntos.

35 Las FIG. 1A-1F ilustran el diseño de inhibidores de p38 selectivos de sustrato. La FIG. 1A ilustra la estructura de p38 α que muestra CD, ED, DEF y el sitio de activación. La FIG. 1B ilustra la comparación entre las estructuras de p38 α y β ; los sitios CD y ED están coloreados en rojo y azul, y la diana de CADD en amarillo. La secuencia que comprende la diana de CADD en p38 α y el sitio correspondiente en p38 β difieren sólo en tres de diez aminoácidos (resaltados en amarillo). La FIG. 1C ilustra el solapamiento de la estructura diana de CADD en p38 α de ratón fosforilada en apo (PDB:1P38; verde) y dualmente (PDB:3PY3; amarillo). La FIG. 1D ilustra la visión general de la estrategia de cribado de CADD. La FIG. 1E ilustra el cribado de DSF de compuestos añadidos a 10, 25, 50 o 100 μ M a p38 α o ERK2 recombinantes con unión indicada por el aumento de la temperatura de fusión. Los compuestos que se unen a ERK2 y p38 α están resaltados en amarillo. Los que sólo se unen a p38 α están resaltadas en azul. La FIG. 1F ilustra la estructura química de UM60, UM101 y SB203580.

45 Las FIG. 2A-2D ilustran los efectos biológicos de los inhibidores de p38. Las FIG. 2A y FIG. 2B ilustran el efecto de SB203580 (SB) 10 μ M, o la concentración indicada de UM60 o 101 sobre la permeabilidad de HMVECL (FIG. 2A) y la capacidad de TEM de neutrófilos dirigida por IL-8 (FIG. 2B). Las células se pretrataron con DMSO o compuestos durante 1 h, después se incubaron con TNF α 10 ng/ml durante 6 h antes del ensayo de permeabilidad (FIG. 2A) o a 39,5 °C sin estímulo adicional durante 6 h antes del ensayo de TEM (FIG. 2B). Media \pm EEM. * indica $p < 0,0001$ frente a DMSO, † $p < 0,0001$ frente a SB, ‡ $p < 0,005$ frente a 37 °C. FIG. 2C y FIG. 2D. Se pretrataron ratones CD1 macho con 1 mg de SB o 0,1-1 mg de UM101 antes de la instilación i.t. de 50 μ g de LPS y la exposición a hipertermia.

* indica $p < 0,05$ frente a DMSO.

Las FIG. 3A-3K ilustran los efectos bioquímicos de los inhibidores de p38 selectivos de sustrato. La FIG. 3A y la FIG. 3B ilustran los mapas de calor de RNASeq que muestran las vías de IPA inhibidas por SB203580 solo o SB203580 y UM101 o (FIG. 3A) y las inhibidas sólo por UM101 (FIG. 3B). La FIG. 3C ilustra los efectos bioquímicos de los inhibidores de p38 selectivos de sustrato sobre células HeLa pretratadas con UM101 50 μ M o SB203580 10 μ M (SB) durante 30 min, después se trataron con anisomicina durante 10-60 min y se sometieron a inmunotransferencia para fosfo-MK2, Stat-1 y p38 total. La FIG. 3D ilustra el análisis por DSF de la unión de UM101 y SB203580 (SB) a p38 α y p38 β recombinantes. Media \pm EEM de 4 experimentos. *, † y § indican $p < 0,0001$ frente a p38 α con DMSO, p38 β con DMSO y p38 β con SB203580, respectivamente. $P < 0,0001$ para la diferencia entre la unión de UM101 a p38 α y p38 β por MANOVA. La FIG. 3E ilustra el análisis por DSF de la unión de UM101 y SB203580 (SB) a p38 α recombinante de tipo silvestre y a un mutante de p38 α con 4 mutaciones en el bolsillo diana de CADD. Media \pm EEM de 4 experimentos. * y †, indican $p < 0,0001$ frente a tipo silvestre con DMSO y mutante con DMSO, respectivamente. $P < 0,0001$ para la diferencia entre la unión de UM101 a p38 α de tipo silvestre y mutante mediante MANOVA. Las FIG. 3F-3K ilustran la STD-RMN realizada con UM101 y p38 α (FIG. 3F y FIG. 3G), p38 β (FIG. 3H y FIG. 3I) y el mutante de p38 α (FIG. 3J y FIG. 3K). Se muestran los espectros de 1D (FIG. 3F, FIG. 3H y FIG. 3J) y STD (FIG. 3G, FIG. 3I y FIG. 3K) de la misma muestra. Las asignaciones provisionales de los picos se indican en la FIG. 3F. La estructura de UM101 con los protones marcados se muestra en el recuadro.

La FIG. 4 ilustra el análisis preliminar de los ARNm de IL-8 e IL-1 β mediante qRT-PCR antes de RNASeq. Se preincubaron HMVECL con DMSO al 0,4 %, SB203580 10 μ M o UM101 100 μ M durante 1 h, después se estimularon con TNF α 10 ng/ml durante 4 h y se recogió el ARN total, se retrotranscribió, se analizó mediante qRT-PCR y se calculó el factor de cambio con respecto a las células de control sin estimular usando el método delta-delta y GAPDH como gen constitutivo.

La FIG. 5 es un mapa de cuadrantes del análisis por RNASeq. Se muestran los genes con al menos 10 lecturas en una muestra por conjunto y un aumento de al menos 2 veces con TNF α . La clave se refiere a la dirección del cambio en las células tratadas con UM101/SB203580 frente a las células tratadas con DMSO.

La FIG. 6 es el FragMap de SILCS de p38 α . Los mapas no polares (verdes) indican los posibles bolsillos de unión, con la ubicación del sitio ED indicada. Se muestran los mapas de donantes (azul) y aceptores (rojo) de enlaces de H.

La FIG. 7 ilustra el compuesto UM101 superpuesto en FragMaps de SILCS mostrados en el esquema de alambre en los contornos de -1,0 kcal/mol para los grupos funcionales aromáticos (morado), alifáticos (verde), positivos (cian), aceptores de enlaces de H (rojo) y donantes de enlaces de H (azul) en la cadena principal de p38 α , con las cadenas laterales de los cuatro restos mutados en el mutante con alteración del sitio CADD de los presentes inventores indicadas. Las distribuciones espaciales de los FragMaps indican dónde contribuyen favorablemente a la unión los respectivos grupos funcionales.

La FIG. 8 ilustra que el UM101 y sus análogos inhiben la permeabilidad celular inducida por trombina. Se pretrataron células endoteliales con o sin 10 o 15 mM de UM101, SF- 6-222 (6222) o SF-7-009 (7009). Se usó la resistencia eléctrica transepitelial/transendotelial (TEER) para medir la permeabilidad celular.

La FIG. 9 ilustra que el UM101 y sus análogos inhiben la lesión pulmonar aguda en un modelo de ratón. Los ratones se pretrataron i.p. con 1 mg de los compuestos de ensayo y después se trataron con 100 mg de LPS i.t. a 39 °C para inducir la inflamación. La lesión pulmonar se evaluó mediante la medición de las proteínas totales en el líquido de lavado pulmonar.

La FIG. 10 ilustra que el UM101 y sus análogos inhiben la lesión pulmonar aguda en un modelo de ratón. Todos los ratones recibieron 50 μ g de LPS i.t. y se mantuvieron 24 h a 39 °C; todos los tratamientos 1 mg en 0,5 ml de DMSO administrado 6 h post-LPS; media \pm EEM, $n = 5$, * $p = 0,03$ frente a DMSO n.º 1; † $p = 0,16$ frente a DMSO n.º 2. La lesión pulmonar se evaluó mediante la medición de las proteínas totales en el líquido de lavado pulmonar.

Descripción detallada de la invención

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

Definiciones

Como se usan en el presente documento, los términos "administrar", "administración" o "administrando" se refieren a (1) proporcionar, dar, dosificar y/o prescribir por un profesional sanitario o su agente autorizado o bajo su dirección de acuerdo con la divulgación; y/o (2) poner en, tomar o consumir por el mamífero, de acuerdo con la divulgación.

Las expresiones "coadministración", "coadministrar", "administrado en combinación con", "administrar en combinación

con", "simultáneo", y "concomitante", como se usan en el presente documento, abarcan la administración de dos o más principios activos farmacéuticos a un sujeto de manera que ambos principios activos farmacéuticos y/o sus metabolitos estén presentes en el sujeto al mismo tiempo. La coadministración incluye la administración simultánea en composiciones separadas, administración en diferentes momentos en composiciones distintas o administración en una composición en la que hay dos o más principios activos farmacéuticos. Se prefiere la administración simultánea en composiciones separadas y la administración en una composición en la que estén presentes ambos agentes.

Las expresiones "principio activo farmacéutico" y "fármaco" incluyen los inhibidores de MAPK p38 α descritos en el presente documento y, más específicamente, los inhibidores de MAPK p38 α descritos por las Fórmulas A, I, II, 1001-1180, en particular las Fórmulas 1001 (SF-6-221), 1032 (SF-7-008), 1034 (SF-7-010), 1035 (SF-7-011), 1036 (SF-7-012), 1037 (SF-6-217), 1043 (SF-6-223), 1049 (SF-6-224), 1061 (SF-6-219), 1085 (SF-6-222), SF-7-009 y 1087 (SF-7-044). Las expresiones "principio activo farmacéutico" y "fármaco" pueden incluir también aquellos compuestos descritos en el presente documento que se unen a la proteína MAPK p38 α y de este modo modulan la actividad de la proteína MAPK p38 α .

El término "isómero" se refiere a un grupo o molécula cuyas propiedades químicas y/o físicas son similares a las de otro grupo o molécula. Un "bioisómero" es un tipo de isómero y se refiere a un grupo o molécula cuyas propiedades biológicas son similares a las de otro grupo o molécula. Por ejemplo, para los inhibidores de MAPK p38 α descritos en el presente documento, un ácido carboxílico puede reemplazarse por uno de los siguientes bioisómeros para ácidos carboxílicos, incluyendo, sin limitación, ésteres alquílicos (COOR), acilsulfonamidas (CONR-SO₂R), ácidos hidroxámicos (CONR-OH), hidroxamatos (CONR-OR), tetrazoles, hidroxisoxazoles, isoxazol-3-onas y sulfonamidas (SO₂NR), donde cada R puede representar independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbociclilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

La expresión "*in vivo*" se refiere a un evento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

La expresión "*in vitro*" se refiere a un evento que tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos basados en células en los que se emplean células vivas o muertas y también pueden incluir un ensayo sin células en el que no se emplean células intactas.

La expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a esa cantidad de un compuesto o combinación de compuestos como se describe en el presente documento que es suficiente para efectuar la aplicación prevista, que incluye, pero sin limitación, el tratamiento de enfermedades. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo de la aplicación prevista (*in vitro* o *in vivo*), o del sujeto y de la enfermedad que se esté tratando (por ejemplo, el peso, la edad y el sexo del sujeto), la gravedad de la patología, la forma de administración, etc., lo que puede determinar fácilmente el experto en la materia. La expresión también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta particular en las células diana (por ejemplo, la reducción de la adhesión plaquetaria y/o la migración celular). La dosis específica variará dependiendo de los compuestos particulares seleccionados, la pauta posológica a seguir, de si el compuesto se administra en combinación con otros compuestos, del momento de la administración, del tejido al que se administra y del sistema de suministro físico en el que se transporta el compuesto.

Un "efecto terapéutico", como se usa la expresión en el presente documento, abarca un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o afección, retrasar o eliminar el inicio de los síntomas de una enfermedad o afección, ralentizar, detener o invertir la evolución de una enfermedad o afección, o cualquier combinación de los mismos.

Como se usan en el presente documento, los términos "tratar", "tratamiento", y/o "tratando" pueden referirse a la gestión de una enfermedad, trastorno o afección patológica, o síntoma de los mismos con la intención de curar, mejorar, estabilizar y/o controlar la enfermedad, trastorno, afección patológica o síntoma de los mismos. En cuanto al control de la enfermedad, trastorno o afección patológica más específicamente, "control" puede incluir la ausencia de progresión de la enfermedad, evaluada mediante la respuesta a los métodos descritos en el presente documento, donde dicha respuesta puede ser completa (por ejemplo, poner la enfermedad en remisión) o parcial (por ejemplo, disminuir o mejorar cualquier síntoma asociado a la afección). Como se usan en el presente documento, las expresiones "prevenir", "que previenen", y/o "prevención" pueden referirse a la reducción del riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección patológica.

Como se usan en el presente documento, los términos "modular" y "modulación" se refieren a un cambio en la actividad biológica de una molécula biológica (por ejemplo, una proteína, gen, péptido, anticuerpo y similares), cuando dicho cambio pueda relacionarse con un aumento de la actividad biológica (es decir, actividad aumentada, agonismo, activación, expresión, regulación positiva y/o aumento de la expresión) o disminución de la actividad biológica (por ejemplo, actividad disminuida, antagonismo, supresión, desactivación, regulación negativa y/o disminución de la expresión) para la molécula biológica. Por ejemplo, los compuestos descritos en el presente documento pueden modular (es decir, inhibir) la proteína MAPK p38 α . En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden modular selectivamente (es decir, inhibir selectivamente) la proteína MAPK p38 α en comparación con otras proteínas MAPK o MAPK p38. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento pueden modular selectivamente (es decir, inhibir selectivamente) la proteína MAPK p38 α en comparación con otras

proteínas MAPK o MAPK p38.

Las expresiones "QD", "1 v.d." o "c.d.", significan *quaque die*, una vez al día o una vez diariamente. Las expresiones "BID", "2 v.d." o "2vd", significan *bis in die*, dos veces al día o dos veces diariamente. Las expresiones "TID", "3 v.d." o "3vd", significan *ter in die*, tres veces al día o tres veces diariamente. Las expresiones "QID", "4 v.d." o "4vd", significan *quater in die*, cuatro veces al día o cuatro veces diariamente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales obtenidas de una diversidad de contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la materia. Pueden formarse sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos de los que pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos de los que pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y ácido salicílico. Pueden formarse sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas de las que pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso y aluminio. Las bases orgánicas de las que pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico. Los ejemplos específicos incluyen isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina y etanolamina. En algunas realizaciones, la sal de adición de bases farmacéuticamente aceptable se selecciona de sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. El término "cocrystal" se refiere a un complejo molecular derivado de una serie de formadores de cocrystal conocidos en la técnica. A diferencia de una sal, un cocrystal normalmente no implica transferencia de hidrógeno entre el cocrystal y el fármaco, sino interacciones intermoleculares, tales como enlaces de hidrógeno, apilamiento de anillos aromáticos o fuerzas de dispersión, entre el formador de cocrystal y el fármaco en la estructura cristalina.

Se prevé que "portador farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" o portador o medio portador "fisiológicamente compatible" incluyan todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, e ingredientes inertes. En la técnica se conoce bien el uso de dichos portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables para principios farmacéuticos activos. Excepto en la medida en que cualquier portador farmacéuticamente aceptable o excipiente farmacéuticamente aceptable convencional sea incompatible con el principio farmacéutico activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas de la invención. También pueden incorporarse principios activos farmacéuticos adicionales, tales como otros fármacos, en las composiciones y métodos descritos.

Un "profármaco" se refiere a un derivado de un compuesto descrito en el presente documento, cuya acción farmacológica es resultado de la conversión mediante procesos químicos o metabólicos *in vivo* en el compuesto activo. Los profármacos incluyen compuestos en donde un resto de aminoácido, o una cadena polipeptídica de dos o más (es decir, dos, tres o cuatro) restos de aminoácidos se une covalentemente mediante un enlace amida o éster a un grupo amino, grupo hidroxilo o ácido carboxílico libre de las Fórmulas A, I, II, 1001-1180, en particular las Fórmulas 1001 (SF-6-221), 1032 (SF-7-008), 1034 (SF-7-010), 1035 (SF-7-011), 1036 (SF-7-012), 1037 (SF-6-217), 1043 (SF-6-223), 1049 (SF-6-224), 1061 (SF-6-219), 1085 (SF-6-222), SF-7-009 y 1087 (SF-7-044). Los restos de aminoácidos incluyen, pero sin limitación, los 20 aminoácidos naturales habitualmente designados por símbolos de una o tres letras, pero también incluyen, por ejemplo, 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, desmosina, isodesmosina, 3-metilhistidina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metionina sulfona. También se incluyen tipos adicionales de profármacos. Por ejemplo, los grupos carboxilo libres pueden derivatizarse como amidas o ésteres alquílicos (por ejemplo, ésteres metílicos y ésteres acetoxi metílicos). Los ésteres de profármacos empleados en el presente documento incluyen ésteres y carbonatos formados haciendo reaccionar uno o más hidroxilos de compuestos del método de la invención con agentes de acilación sustituidos con alquilo, alcoxi o arilo que empleen procedimientos conocidos por los expertos en la materia para generar acetatos, pivalatos, metilcarbonatos, benzoatos y similares. Como ejemplos adicionales, los grupos hidroxilo libres pueden derivatizarse usando grupos que incluyen, pero sin limitación, hemisuccinatos, ésteres de fosfato, dimetilaminoacetatos y fosforiloximetiloxycarbonilos, como se esboza en *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1996, 19, 115. También se incluyen profármacos de carbamato de grupos hidroxilo y amino, al igual que profármacos de carbonato, profármacos de sulfonato, ésteres de sulfonato y ésteres de sulfato de grupos hidroxilo. Las aminas libres también pueden derivatizarse a amidas, sulfonamidas o fosfonamidas. Todos los restos de profármaco indicados pueden incluir, pero sin limitación, funcionalidades éter, amina y ácido carboxílico. Por otro lado, cualquier compuesto que pueda convertirse *in vivo* para proporcionar el agente bioactivo (es decir, un compuesto de fórmula A, I, II, III y IV) es un profármaco dentro del alcance de la invención. En la técnica se conocen bien diversas formas de profármacos. Se realiza una descripción exhaustiva de profármacos y derivados de profármacos en: (a) *The Practice of Medicinal Chemistry*, Camille G. Wermuth *et al.*, (Academic Press, 1996); (b) *Design of Prodrugs*, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985); (c) *A Textbook of Drug Design and Development*, P. Krogsgaard-Larson y H. Bundgaard, eds., (Harwood Academic Publishers, 1991). En general, los profármacos pueden diseñarse para mejorar la penetración de un fármaco a través de las membranas biológicas con el fin de obtener una mejor absorción del fármaco, para prolongar la duración de la acción de un fármaco (liberación lenta del fármaco precursor desde un profármaco, disminución del metabolismo de primer paso del fármaco), para dirigir la acción del

fármaco (por ejemplo, direccionamiento a órganos o tumores, direccionamiento a linfocitos), para modificar o mejorar la solubilidad acuosa de un fármaco (por ejemplo, preparados i.v. y colirios), para mejorar el suministro tópico de fármacos (por ejemplo, suministro dérmico y ocular), para mejorar la estabilidad química/enzimática de un fármaco, o para disminuir los efectos inespecíficos del fármaco, y más generalmente con el fin de mejorar la eficacia terapéutica de los compuestos utilizados en la invención.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras químicas representadas en el presente documento pretenden incluir compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, los compuestos donde uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por deuterio o tritio, o en donde uno o más átomos de carbono se reemplazan por carbonos enriquecidos con ^{13}C o ^{14}C , están dentro del alcance de la presente invención.

Cuando en el presente documento se utilizan intervalos para describir, por ejemplo, propiedades físicas o químicas, tales como peso molecular o fórmulas químicas, se pretende que estén incluidas todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y realizaciones específicas en los mismos. El uso del término "aproximadamente" cuando se hace referencia a un número o un intervalo numérico significa que el número o intervalo numérico al que se hace referencia es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error estadístico experimental) y, por lo tanto, el número o intervalo numérico puede variar. La variación está normalmente entre el 0 % y el 15 %, o entre el 0 % y el 10 %, o entre el 0 % y el 5 % del número o intervalo numérico indicado. La expresión "que comprende" (y expresiones relacionadas tales como "comprenden" o "comprende", o "que tiene" o "que incluye") incluye las realizaciones, tales como, por ejemplo, una realización de cualquier composición de materia, método o proceso que "consiste en" o "consiste esencialmente en" las características descritas.

"Alquilo" se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene ninguna insaturación, que tiene de uno a diez átomos de carbono (por ejemplo, alquilo (C_{1-10}) o alquilo C_{1-10}). Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 1 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 1 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 10 átomos de carbono inclusive, aunque también se prevé que la definición cubra la aparición del término "alquilo" cuando no se designe específicamente ningún intervalo numérico. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero sin limitación alguna, metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, sec-butilo, isobutilo, butilo terciario, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, septilo, octilo, nonilo y decilo. El resto alquilo puede estar unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, tal como, por ejemplo, metilo (Me), etilo (Et), *n*-propilo (Pr), 1-metiletilo (isopropilo), *n*-butilo, *n*-pentilo, 1,1-dimetiletilo (*t*-butilo) y 3-metilhexilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente heteroalquilo, acilsulfonamido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilano, $-\text{OR}^a$, $-\text{SR}^a$, $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde *t* es 1 o 2), $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde *t* es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde *t* es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{OR}^a$ (donde *t* es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (donde *t* es 1 o 2) o $\text{PO}(\text{OR}^a)_2$ donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicliclalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Alquilarilo" se refiere a un radical $-(\text{alquil})\text{arilo}$ donde el arilo y el alquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para arilo y alquilo respectivamente.

"Alquilhetarilo" se refiere a un radical $-(\text{alquil})\text{hetarilo}$ donde el hetarilo y el alquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para arilo y alquilo respectivamente.

"Alquilheterocicloalquilo" se refiere a un radical $-(\text{alquil})\text{heterocíclico}$ donde el alquilo y el heterocicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para heterocicloalquilo y alquilo respectivamente.

Un resto "alqueno" se refiere a un grupo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono, y un resto "alquino" se refiere a un grupo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. El resto alquilo, tanto saturado como insaturado, puede ser ramificado, de cadena lineal o cíclico.

"Alquenilo" se refiere a un grupo radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un doble enlace, y que tiene de dos a diez átomos de carbono (es decir, alquenilo (C_{2-10}) o alquenilo C_{2-10}). Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 2 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 2 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo alquenilo puede consistir en 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 10 átomos de carbono inclusive. El resto alquenilo puede estar unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, tal como, por ejemplo, etenilo (es decir, vinilo), prop-1-enilo (es decir, alilo), but-1-enilo, pent-1-enilo y penta-1,4-dienilo.

- A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alqueno está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente alquilo, heteroalquilo, acilsulfonamido, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilano, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbocíclico, carbocíclicolalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.
- 10 "Alquenil-cicloalquilo" se refiere a un radical $-(alquenil)cicloalquilo$ donde el alqueno y el cicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para alqueno y cicloalquilo respectivamente.
- 15 "Alquino" se refiere a un grupo radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un triple enlace, que tiene de dos a diez átomos de carbono (es decir, alquino (C_{2-10}) o alquino C_{2-10}). Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 2 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 2 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo alquino puede consistir en 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 10 átomos de carbono inclusive. El alquino puede estar unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo,
- 20 etino, propino, butino, pentino y hexino. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo alquino está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, acilsulfonamido, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilano, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbocíclico, carbocíclicolalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.
- 25 "Alquino-cicloalquilo" se refiere a un radical $-(alquino)cicloalquilo$ donde el alquino y el cicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para alquino y cicloalquilo respectivamente.
- 30 "Acilsulfonamida" se refiere al grupo $-C(=O)NR^a-S(=O)_2R^a$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbocíclico, carbocíclicolalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.
- 35 "Carboxaldehído" se refiere a un radical $-(C=O)H$.
- 40 "Carbonilo" se refiere al grupo $-C(=O)-$. Los grupos carbonilo pueden estar sustituidos con los siguientes sustituyentes de ejemplo: alquilo, heteroalquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, acilsulfonamido, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilano, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-NR^a-OR^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbocíclico, carbocíclicolalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.
- 45 "Carboxilo" se refiere a un radical $-(C=O)OH$.
- 50 "Ciano" se refiere a un radical $-CN$.
- 55 "Cicloalquilo" se refiere a un radical monocíclico o policíclico que sólo contiene carbono e hidrógeno, y que puede estar saturado o parcialmente insaturado. Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen de 3 a 10 átomos de anillo (es decir, cicloalquilo (C_{3-10}) o cicloalquilo C_{3-10}). Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 3 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 3 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo cicloalquilo puede consistir en 3 átomos de carbono, etc., hasta 10 átomos de carbono inclusive. Los ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, los siguientes restos: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo, ciclodecilo, norbornilo y similares. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo cicloalquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, acilsulfonamido, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilano, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a
- 65

es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Cicloalquil-alquenilo" se refiere a un radical -(cicloalquil)alquenilo donde el cicloalquilo y el alquenilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para cicloalquilo y alquenilo, respectivamente.

"Cicloalquil-heterocicloalquilo" se refiere a un radical -(cicloalquil)heterocicloalquilo donde el cicloalquilo y el heterocicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para cicloalquilo y heterocicloalquilo, respectivamente.

"Cicloalquil-heteroarilo" se refiere a un radical -(cicloalquil)heteroarilo donde el cicloalquilo y el heteroarilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para cicloalquilo y heteroarilo, respectivamente.

El término "alcoxi" se refiere al grupo -O-alquilo, que incluye de 1 a 8 átomos de carbono de una configuración lineal, ramificada, cíclica y combinaciones de las mismas, unido a la estructura precursora a través de un oxígeno. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, ciclopropiloxi y ciclohexiloxi. "Alcoxi inferior" se refiere a grupos alcoxi que contienen de uno a seis carbonos.

La expresión "alcoxi sustituido" se refiere a alcoxi en donde el constituyente alquilo está sustituido (es decir, -O-(alquilo sustituido)). A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el resto alquilo de un grupo alcoxi está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, alquenilo, acilsulfonamido, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, -OR^a, -SR^a, -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -OC(O)-R^a, -N(R^a)₂, -C(O)R^a, -C(O)OR^a, -OC(O)N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)OR^a, -N(R^a)C(O)R^a, -N(R^a)C(O)N(R^a)₂, N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂, -N(R^a)S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tOR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tN(R^a)₂ (donde t es 1 o 2) o PO(OR^a)₂, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

El término "alcoxycarbonilo" se refiere a un grupo de fórmula (alcoxi)(C=O)- unido a través del carbono de carbonilo en donde el grupo alcoxi tiene el número indicado de átomos de carbono. Por lo tanto, un grupo alcoxycarbonilo (C₁₋₆) es un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono unidos a través de su oxígeno a un enlazador de carbonilo. "Alcoxycarbonilo inferior" se refiere a un grupo alcoxycarbonilo en donde el grupo alcoxi es un grupo alcoxi inferior.

La expresión "alcoxycarbonilo sustituido" se refiere al grupo (alquil sustituido)-O-C(O)- en donde el grupo está unido a la estructura precursora a través de la funcionalidad carbonilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el resto alquilo de un grupo alcoxycarbonilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, acilsulfonamido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, -OR^a, -SR^a, -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -OC(O)-R^a, -N(R^a)₂, -C(O)R^a, -C(O)OR^a, -OC(O)N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)OR^a, -N(R^a)C(O)R^a, -N(R^a)C(O)N(R^a)₂, N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂, -N(R^a)S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tOR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tN(R^a)₂ (donde t es 1 o 2) o PO(OR^a)₂, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Acilo" se refiere a los grupos (alquil)-C(O)-, (aril)-C(O)-, (heteroaril)-C(O)-, (heteroalquil)-C(O)- y (heterocicloalquil)-C(O)-, en donde el grupo está unido a la estructura precursora a través de la funcionalidad carbonilo. Si el radical R es heteroarilo o heterocicloalquilo, los hetero átomos de anillo o de cadena contribuyen al número total de átomos de cadena o anillo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el resto alquilo, arilo o heteroarilo del grupo acilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente alquilo, heteroalquilo, acilsulfonamido, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, -OR^a, -SR^a, -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -OC(O)-R^a, -N(R^a)₂, -C(O)R^a, -C(O)OR^a, -OC(O)N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)OR^a, -N(R^a)C(O)R^a, -N(R^a)C(O)N(R^a)₂, N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂, -N(R^a)S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tOR^a (donde t es 1 o 2), -S(O)_tN(R^a)₂ (donde t es 1 o 2) o PO(OR^a)₂, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Aciloxi" se refiere a un radical R(C=O)O- en donde R es alquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o heterocicloalquilo, que son como se describen en el presente documento. Si el radical R es heteroarilo o heterocicloalquilo, los hetero átomos de anillo o de cadena contribuyen al número total de átomos de cadena o anillo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el R de un grupo aciloxi está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo,

hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Amino" o "amina" se refieren a un grupo radical $-N(R^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo, a menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva. Cuando un grupo $-N(R^a)_2$ tiene dos sustituyentes R^a distintos de hidrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 4, 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, $-N(R^a)_2$ pretende incluir, pero sin limitación, 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo amino está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, acilsulfonamido, heteroalquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

La expresión "amino sustituido" también se refiere a N-óxidos de los grupos $-NHR^d$ y NR^dR^d cada uno como se ha descrito anteriormente. Los N-óxidos pueden prepararse mediante el tratamiento del grupo amino correspondiente con, por ejemplo, peróxido de hidrógeno o ácido m-cloroperoxibenzoico.

"Amida" o "amido" se refiere a un resto químico de fórmula $-C(O)NR^aR^b$ or $-NR^aC(O)R^b$, donde R^a y R^b se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono de anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono de anillo), cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. Los R^a y R^b de la amida $-C(O)NR^aR^b$ pueden opcionalmente tomarse junto con el nitrógeno al que están unidos para formar un anillo de 4, 5, 6 o 7 miembros. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo amido está opcionalmente sustituido independientemente con uno o más de los sustituyentes que se describen en el presente documento para alquilo, amino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo. Una amida puede ser un aminoácido o una molécula peptídica unida a un compuesto divulgado en el presente documento, formando de este modo un profármaco. Los procedimientos y grupos específicos para fabricar dichas amidas son conocidos por los expertos en la materia y pueden encontrarse fácilmente en fuentes seminales tales como Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3.^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 1999.

"Aromático" o "arilo" o "Ar" se refiere a un radical aromático con seis a diez átomos de anillo (por ejemplo, aromático C_6-C_{10} o arilo C_6-C_{10}) que tiene al menos un anillo que tiene un sistema de electrones π conjugados que es carbocíclico (por ejemplo, fenilo, fluorenilo y naftilo). Los radicales bivalentes formados a partir de derivados de benceno sustituidos y que tienen las valencias libres en los átomos de anillo se denominan radicales fenileno sustituidos. Los radicales bivalentes derivados de radicales hidrocarbonados policíclicos univalentes cuyos nombres terminan en "-ilo" por la eliminación de un átomo de hidrógeno del átomo de carbono con valencia libre se denominan añadiendo "-ideno" al nombre del radical univalente correspondiente, por ejemplo, un grupo naftilo con dos puntos de unión se denomina naftilideno. Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 6 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado; por ejemplo, "de 6 a 10 átomos de anillo" significa que el grupo arilo puede consistir en 6 átomos de anillo, 7 átomos de anillo, etc., hasta e incluyendo 10 átomos de anillo. El término incluye grupos monocíclicos o policíclicos de anillo condensado (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de anillo). A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un resto arilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente alquilo, heteroalquilo, acilsulfonamido, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, $-OR^a$, $-SR^a$, $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-OC(O)R^a$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)R^a$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)OR^a$, $-N(R^a)C(O)R^a$, $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$, $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$, $-N(R^a)S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tOR^a$ (donde t es 1 o 2), $-S(O)_tN(R^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $PO(OR^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Aralquilo" o "arilalquilo" se refiere a un radical (aril)alquilo- donde el arilo y el alquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para arilo y alquilo respectivamente.

"Éster" se refiere a un radical químico de fórmula $-COOR$, donde R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono de anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono de anillo). Los procedimientos y grupos específicos para fabricar ésteres son conocidos por los expertos en la materia y pueden encontrarse fácilmente en fuentes seminales tales como Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic*

Synthesis, 3.^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 1999. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un grupo éster está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, acilsulfonamido, heteroalquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, trimetilsilanilo, $-\text{OR}^a$, $-\text{SR}^a$, $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{OR}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $\text{PO}(\text{OR}^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicliclilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Fluoroalquilo" se refiere a un radical alquilo, como se ha definido anteriormente, que está sustituido con uno o más radicales flúor, como se han definido anteriormente, por ejemplo, trifluorometilo, difluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 1-fluorometil-2-fluoroetilo y similares. La parte alquilo del radical fluoroalquilo puede estar opcionalmente sustituida como se ha definido anteriormente para un grupo alquilo.

"Halo", "haluro", o, como alternativa, "halógeno" pretende significar fluoro, cloro, bromo o yodo. Los términos "haloalquilo", "haloalquenoilo", "haloalquinilo", y "haloalcoxi" incluyen estructuras de alquilo, alquenoilo, alquilo y alcoxi que están sustituidas con uno o más grupos halo o con combinaciones de los mismos. Por ejemplo, los términos "fluoroalquilo" y "fluoroalcoxi" incluyen grupos haloalquilo y haloalcoxi, respectivamente, en los que el halo es flúor.

"Heteroalquilo", "heteroalquenoilo", y "heteroalquinilo" se refieren a radicales alquilo, alquenoilo y alquinilo opcionalmente sustituidos y que tienen uno o más átomos de la cadena principal seleccionados de un átomo distinto de carbono, por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo o combinaciones de los mismos. Puede proporcionarse un intervalo numérico, por ejemplo, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, que se refiere a la longitud total de la cadena, que en este ejemplo tiene 4 átomos de longitud. Un grupo heteroalquilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, heteroalquilo, alquenoilo, alquinilo, acilsulfonamido, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxilo, halo, ciano, nitro, oxo, tioxo, trimetilsilanilo, $-\text{OR}^a$, $-\text{SR}^a$, $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$, $\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$, $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{R}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{OR}^a$ (donde t es 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (donde t es 1 o 2) o $\text{PO}(\text{OR}^a)_2$, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicliclilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Heteroalquilario" se refiere a un radical $-(\text{heteroalquil})\text{arilo}$ donde el heteroalquilo y el arilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para heteroalquilo y arilo, respectivamente.

"Heteroalquilheteroarilo" se refiere a un radical $-(\text{heteroalquil})\text{heteroarilo}$ donde el heteroalquilo y el heteroarilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para heteroalquilo y heteroarilo, respectivamente.

"Heteroalquilheterocicloalquilo" se refiere a un radical $-(\text{heteroalquil})\text{heterocicloalquilo}$ donde el heteroalquilo y el heterocicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para heteroalquilo y heterocicloalquilo, respectivamente.

"Heteroalquilocicloalquilo" se refiere a un radical $-(\text{heteroalquil})\text{cicloalquilo}$ donde el heteroalquilo y el cicloalquilo son como se han divulgado en el presente documento y están opcionalmente sustituidos con uno o más de los sustituyentes descritos como sustituyentes adecuados para heteroalquilo y cicloalquilo, respectivamente.

"Heteroarilo" o "heteroaromático" o "HetAr" se refiere a un radical aromático de 5 a 18 miembros (por ejemplo, heteroarilo $\text{C}_5\text{-C}_{13}$) que incluye uno o más heteroátomos de anillo seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, y que puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico. Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 5 a 18" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 5 a 18 átomos de anillo" significa que el grupo heteroarilo puede consistir en 5 átomos de anillo, 6 átomos de anillo, etc., hasta e incluyendo 18 átomos de anillo. Los radicales bivalentes derivados de radicales heteroarilo univalentes cuyos nombres terminan en "-ilo" por la eliminación de un átomo de hidrógeno del átomo con valencia libre se denominan añadiendo "-ideno" al nombre del radical univalente correspondiente, por ejemplo, un grupo piridilo con dos puntos de unión es un piridilideno. Un resto "heteroaromático" o "heteroarilo" que contiene N se refiere a un grupo aromático en el que al menos uno de los átomos de la cadena principal del anillo es un átomo de nitrógeno. El grupo heteroarilo policíclico puede estar condensado o no condensado. El heteroátomo o heteroátomos en el radical heteroarilo están opcionalmente oxidados. Uno o más átomos de nitrógeno, si están presentes, están opcionalmente cuaternizados. El heteroarilo puede estar unido al resto de la molécula a través de cualquier átomo del anillo o anillos. Los ejemplos de heteroarilos incluyen, pero sin limitación, azepinilo, acridinilo, benzoimidazolilo, benzoindolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzofuranilo, benzooxazolilo, benzo[d]tiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo[b][1,4]dioxepinilo, benzo[b][1,4]oxazinilo, 1,4-benzodioxanilo, benzonaftofuranilo, benzoxazolilo, benzodioxolilo, benzodioxinilo, benzoxazolilo,

benzopirano, benzopirano, benzofurano, benzofurano, benzofurazano, benzotiazolo, benzotieno (benzotiofeno), benzotieno[3,2-*d*]pirimidino, benzotriazolo, benzo[4,6]imidazo[1,2-*a*]piridino, carbazolo, cinolino, ciclopenta[*d*]pirimidino, 6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[4,5]tieno[2,3-*d*]pirimidino, 5,6-dihidrobenzo[*h*]quinazolino, 5,6-dihidrobenzo[*h*]cinolino, 6,7-dihidro-5*H*-benzo[6,7]ciclohepta[1,2-*c*]piridazino, dibenzofurano, dibenzotiofeno, furano, furazano, furano, furo[3,2-*c*]piridino, 5,6,7,8,9,10-hexahidrocicloocta[*d*]pirimidino, 5,6,7,8,9,10-hexahidrocicloocta[*d*]piridazino, 5,6,7,8,9,10-hexahidrocicloocta[*d*]piridino, isotiazolo, imidazolo, indazolo, indolilo, indazolo, isoindolilo, indolino, isoindolino, isoquinolilo, indolizino, isoxazolo, isoxazol-3-ona, 5,8-metano-5,6,7,8-tetrahidroquinazolino, naftiridino, 1,6-naftiridinono, oxadiazolo, 2-oxoazepino, oxazolo, oxirano, 5,6,6a,7,8,9,10,10a-octahidrobenzo[*h*]quinazolino, 1-fenil-1*H*-pirrolilo, fenazino, fenotiazino, fenoxazino, ftalazino, pteridino, purino, pirano, pirrolilo, pirazolo, pirazolo[3,4-*d*]pirimidino, piridino, pirido[3,2-*d*]pirimidino, pirido[3,4-*d*]pirimidino, pirazino, pirimidino, piridazino, pirrolilo, quinazolino, quinoxalino, quinolino, isoquinolino, tetrahidroquinolino, 5,6,7,8-tetrahidroquinazolino, 5,6,7,8-tetrahidrobenzo[4,5]tieno[2,3-*d*]pirimidino, 6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-ciclohepta[4,5]tieno[2,3-*d*]pirimidino, 5,6,7,8-tetrahidropirido[4,5-*c*]piridazino, tiazolo, tiadiazolo, tiapirano, triazolo, tetrazolo, triazino, tieno[2,3-*d*]pirimidino, tieno[3,2-*d*]pirimidino, tieno[2,3-*c*]piridino y tieno (es decir, tieno). A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un resto heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, acilsulfonamido, heteroalquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, nitro, oxo, tioxo, trimetilsilano, -OR^a, -SR^a, -S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -OC(O)-R^a, -N(R^a)₂, -C(O)R^a, -C(O)OR^a, -OC(O)N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)OR^a, -N(R^a)C(O)R^a, -N(R^a)C(O)N(R^a)₂, N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂, -N(R^a)S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tOR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tN(R^a)₂ (donde *t* es 1 o 2) o PO(OR^a)₂, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

Los heteroarilos sustituidos también incluyen sistemas de anillos sustituidos con uno o más sustituyentes óxido (-O-), tales como, por ejemplo, N-óxidos de piridino.

"Heteroarilalquilo" se refiere a un resto que tiene un resto arilo, como se describe en el presente documento, conectado a un resto alquilo, como se describe en el presente documento, en donde la conexión con el resto de la molécula se realiza a través del grupo alquilo.

"Heterocicloalquilo" se refiere a un radical de anillo no aromático estable de 3 a 18 miembros que comprende de dos a doce átomos de carbono y de uno a seis heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre. Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 3 a 18" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 3 a 18 átomos de anillo" significa que el grupo heterocicloalquilo puede consistir en 3 átomos de anillo, 4 átomos de anillo, etc., hasta e incluyendo 18 átomos de anillo. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, el radical heterocicloalquilo es un sistema de anillos monocíclicos, bicíclico, tricíclicos o tetracíclicos, que puede incluir sistemas de anillos condensados o unidos por puente. Los heteroátomos en el radical heterocicloalquilo pueden estar opcionalmente oxidados. Uno o más átomos de nitrógeno, si están presentes, están opcionalmente cuaternizados. El radical heterocicloalquilo está parcial o totalmente saturado. El heterocicloalquilo puede estar unido al resto de la molécula a través de cualquier átomo del anillo o anillos. Los ejemplos de dichos radicales heterocicloalquilo incluyen, pero sin limitación, dioxolano, tienil[1,3]dianilo, decahidroisoquinolilo, imidazolino, imidazolidino, isotiazolidino, isoxazolidino, morfolino, octahidroindolilo, octahidroisoindolilo, 2-oxopiperazino, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, oxazolidino, piperidino, piperazino, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, pirazolidino, quinuclidino, tiazolidino, tetrahidrofuro, tritiano, tetrahidropirano, tiomorfolino, tiomorfolino, 1-oxo-tiomorfolino y 1,1-dioxo-tiomorfolino. A menos que se indique otra cosa específicamente en la memoria descriptiva, un resto heterocicloalquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente: alquilo, acilsulfonamido, heteroalquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, hidroxi, halo, ciano, nitro, oxo, tioxo, trimetilsilano, -OR^a, -SR^a, -S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -OC(O)-R^a, -N(R^a)₂, -C(O)R^a, -C(O)OR^a, -OC(O)N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)OR^a, -N(R^a)C(O)R^a, -N(R^a)C(O)N(R^a)₂, N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂, -N(R^a)S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tOR^a (donde *t* es 1 o 2), -S(O)_tN(R^a)₂ (donde *t* es 1 o 2) o PO(OR^a)₂, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Heterocicloalquilo" incluye también sistemas de anillos bicíclicos en donde un anillo no aromático, por lo general con 3 a 7 átomos de anillo, contienen al menos 2 átomos de carbono además de 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno, así como combinaciones que comprenden al menos uno de los heteroátomos anteriores; y el otro anillo, por lo general con 3 a 7 átomos de anillo, opcionalmente contiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno y no es aromático.

"Hidroxamato" se refiere al resto -C(O)NR^aOR^a, donde cada R^a es independientemente hidrógeno, alquilo, fluoroalquilo, carbociclilo, carbocicilalquilo, arilo, aralquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo.

"Nitro" se refiere al radical -NO₂.

"Oxa" se refiere al radical -O-.

"Oxo" se refiere al radical =O.

- 5 Los "isómeros" son compuestos diferentes que tienen la misma fórmula molecular. Los "estereoisómeros" son isómeros que se diferencian únicamente en la manera en la que los átomos están dispuestos en el espacio, es decir, que tienen una configuración estereoquímica diferente. Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros que no son imágenes especulares superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término "(±)" se usa para designar una mezcla racémica cuando se apropiado. Los "diastereoisómeros" son
- 10 estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog R-S. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede especificarse por (*R*) o (*S*). Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce se pueden designar (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro o levorrotatoria) en la que gira la luz polarizada plana en la longitud de onda de la línea D del sodio. Algunos de los
- 15 compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, pueden producir enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (*R*) o (*S*). Las presentes entidades químicas, composiciones farmacéuticas y métodos pretenden incluir todos los isómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, formas ópticamente puras y mezclas de productos intermedios. Pueden prepararse isómeros (*R*) y (*S*) ópticamente activos usando sintones quirales (quirones) o reactivos quirales, o se resuelven usando técnicas convencionales. Cuando los compuestos descritos en el presente documento contienen dobles enlaces olefinicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique otra cosa, se entiende que los compuestos incluyen isómeros geométricos tanto *E* como *Z*.

- La "pureza enantiomérica" como se usa en el presente documento se refiere a las cantidades relativas, expresadas como porcentaje, de la presencia de un enantiómero específico con respecto al otro enantiómero. Por ejemplo, si un
- 25 compuesto, que potencialmente puede tener una configuración isomérica (*R*) o (*S*), está presente como una mezcla racémica, la pureza enantiomérica es de aproximadamente el 50 % con respecto al isómero (*R*) o (*S*). Si ese compuesto tiene una forma isomérica predominante sobre la otra, por ejemplo, el 80 % del isómero (*S*) y el 20 % del isómero (*R*), la pureza enantiomérica del compuesto con respecto a la forma isomérica (*S*) es del 80 %. La pureza enantiomérica de un compuesto se puede determinar de varias maneras conocidas en la técnica, incluyendo, sin limitación, cromatografía usando un soporte quiral, medición polarimétrica de la rotación de luz polarizada, espectroscopía de resonancia magnética nuclear usando reactivos de desplazamiento quirales que incluyen, pero sin limitación, complejos quirales que contienen lantánidos o reactivos de Pirkle, o derivatización de un compuesto usando un compuesto quiral tal como ácido de Mosher seguido de cromatografía o espectroscopía de resonancia magnética
- 35 nuclear.

- En algunas realizaciones, la composición enriquecida enantioméricamente tiene una mayor potencia con respecto a la utilidad terapéutica por unidad de masa que la mezcla racémica de esa composición. Los enantiómeros pueden aislarse de las mezclas mediante métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo la cromatografía
- 40 líquida de alta presión (HPLC por las siglas del inglés *high pressure liquid chromatography*) quiral y la formación y cristalización de sales quirales; o los enantiómeros preferidos pueden prepararse mediante síntesis asimétrica. Véase, por ejemplo, Jacques, *et al.*, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Wiley Interscience, Nueva York (1981); E. L. Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, McGraw-Hill, Nueva York (1962); y E. L. Eliel y S. H. Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley-Interscience, Nueva York (1994).

- Las expresiones "enriquecido enantioméricamente" y "no racémico", como se usan en el presente documento, se refieren a composiciones en las que el porcentaje en peso de un enantiómero es mayor que la cantidad de ese enantiómero en una mezcla de control de la composición racémica (por ejemplo, mayor que 1:1 en peso). Por ejemplo, una preparación enriquecida enantioméricamente de enantiómero (*S*), significa una preparación del compuesto que
- 50 tiene más del 50 % en peso de enantiómero (*S*) respecto al enantiómero (*R*), tal como al menos el 75 % en peso, o tal como al menos el 80 % en peso. En algunas realizaciones, el enriquecimiento puede ser significativamente superior al 80 % en peso, proporcionando una preparación "sustancialmente enriquecida enantioméricamente" o "sustancialmente no racémica", que se refiere a preparaciones de composiciones que tienen al menos un 85 % en peso de un enantiómero con respecto a otro enantiómero, tal como al menos el 90 % en peso, o tal como al menos el
- 55 95 % en peso. Las expresiones "enantioméricamente puro" o "sustancialmente enantioméricamente puro", se refieren a una composición que comprende al menos un 98 % de un enantiómero único y menos de un 2 % del enantiómero opuesto.

- "Resto" se refiere a un segmento o grupo funcional específico de una molécula. Los restos químicos con frecuencia se reconocen como entidades químicas embebidas en una molécula o anexas a una molécula.
- 60

- Los "tautómeros" son isómeros estructuralmente distintos que se interconvierten por tautomería. La "tautomería" es una forma de isomerización e incluye tautomería prototrópica o de desplazamiento de protones, que se considera un subconjunto de la química ácido-base. La "tautomería prototrópica" o "tautomería por desplazamiento de protones" implica la migración de un protón acompañada de cambios en el orden de los enlaces, a menudo el intercambio de un enlace simple por un enlace doble adyacente. Cuando es posible la tautomería (por ejemplo, en solución), puede
- 65

alcanzarse un equilibrio químico de los tautómeros. Un ejemplo de tautomería es la tautomería ceto-enol. Un ejemplo específico de tautomería ceto-enol es la interconversión de tautómeros de pentano-2,4-diona y 4-hidroxipent-3-en-2-ona. Otro ejemplo de la tautomería es la tautomería fenol-ceto. Un ejemplo específico de tautomería fenol-ceto es la interconversión de tautómeros de piridin-4-ol y piridin-4(1H)-ona.

Un "grupo o átomo saliente" es cualquier grupo o átomo que, en condiciones de reacción seleccionadas, se escinde del material de partida, promoviendo de este modo la reacción en un sitio específico. Los ejemplos de dichos grupos, a menos que se especifique otra cosa, incluyen átomos de halógeno y grupos mesiloxi, p-nitrobencenosulfoniloxi y tosiloxi.

La expresión "grupo protector" pretende significar un grupo que bloquea selectivamente uno o más sitios reactivos en un compuesto multifuncional de manera que una reacción química pueda realizarse selectivamente en otro sitio reactivo desprotegido y el grupo pueda eliminarse o desprotegerse fácilmente después de completar la reacción selectiva. Se divulgan diversos grupos protectores, por ejemplo, en T. H. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3.ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999).

"Solvato" se refiere a un compuesto en asociación física con una o más moléculas de un disolvente farmacéuticamente aceptable.

"Sustituido" significa que el grupo al que se hace referencia puede tener unidos uno o más grupos, radicales o restos adicionales seleccionados individual e independientemente de, por ejemplo, acilo, alquilo, alquilarilo, cicloalquilo, aralquilo, arilo, hidrato de carbono, carbonato, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxamato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, ciano, halo, carbonilo, éster, tiocarbonilo, isocianato, tiocianato, isotiocianato, nitro, oxo, perhaloalquilo, perfluoroalquilo, fosfato, sililo, sulfínilo, sulfonilo, sulfonamidilo, sulfoxilo, sulfonato, urea y amino, incluyendo grupos amino mono y disustituídos, y derivados protegidos de los mismos. Los propios sustituyentes pueden sustituirse, por ejemplo, un sustituyente de cicloalquilo puede tener propiamente un sustituyente de haluro en uno o más de sus carbonos del anillo. La expresión "opcionalmente sustituido" significa una sustitución opcional con los grupos, radicales o restos especificados.

"Sulfanilo" se refiere a los grupos que incluyen -S-(alquilo opcionalmente sustituido), -S-(arilo opcionalmente sustituido), -S-(heteroarilo opcionalmente sustituido) y -S-(heterocicloalquilo opcionalmente sustituido).

"Sulfínilo" se refiere a grupos que incluyen -S(O)-H, -S(O)-(alquilo opcionalmente sustituido), -S(O)-(amino opcionalmente sustituido), -S(O)-(arilo opcionalmente sustituido), -S(O)-(heteroarilo opcionalmente sustituido) y -S(O)-(heterocicloalquilo opcionalmente sustituido).

"Sulfonilo" se refiere a grupos que incluyen -S(O₂)-H, -S(O₂)-(alquilo opcionalmente sustituido), -S(O₂)-(amino opcionalmente sustituido), -S(O₂)-(arilo opcionalmente sustituido), -S(O₂)-(heteroarilo opcionalmente sustituido) y -S(O₂)-(heterocicloalquilo opcionalmente sustituido).

"Sulfonamidilo" o "sulfonamido" se refiere a un radical -S(=O)₂-NRR, donde cada R se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono de anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono de anillo). Los grupos R en -NRR del radical -S(=O)₂-NRR pueden tomarse junto con el nitrógeno al que está unido para formar un anillo de 4, 5, 6 o 7 miembros. Un grupo sulfonamido está opcionalmente sustituido con uno o más de los sustituyentes descritos para el alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, respectivamente.

"Sulfoxilo" se refiere a un radical -S(=O)₂OH.

"Sulfonato" se refiere a un radical -S(=O)₂-OR, donde R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono de anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono de anillo). Un grupo sulfonato está opcionalmente sustituido en R con uno o más de los sustituyentes descritos para alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, respectivamente.

Los compuestos de la invención también incluyen formas cristalinas y amorfas de esos compuestos, incluyendo, por ejemplo, polimorfos, pseudopolimorfos, solvatos, hidratos, polimorfos no solvatados (incluyendo anhídros), polimorfos conformacionales y formas amorfas de los compuestos, así como mezclas de los mismos. "Forma cristalina" y "polimorfo" pretenden incluir todas las formas cristalinas y amorfas del compuesto, incluyendo, por ejemplo, polimorfos, pseudopolimorfos, solvatos, hidratos, polimorfos no solvatados (incluyendo anhídros), polimorfos conformacionales y formas amorfas, así como mezclas de los mismos, a menos que se haga referencia a una forma cristalina o amorfa particular.

Proteína cinasas activada por mitógenos p38 (MAPK), inhibición de las mismas e inhibición selectiva de p38α

La familia de proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK) p38 de cinasas activadas por estrés y citocinas contribuye a la patogenia de muchas enfermedades humanas, incluyendo el cáncer, artritis reumatoide, enfermedad

cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesión pulmonar aguda (LPA). Entre los muchos procesos biológicos importantes regulados por MAPK p38, la regulación de la función de barrera endotelial y epitelial, el tráfico de leucocitos y la expresión de citocinas son fundamentales en la patogenia de los trastornos inflamatorios agudos y crónicos. Aunque los estudios preclínicos respaldan la inhibición farmacológica de p38 como tratamiento prometedor para las enfermedades inflamatorias, los inhibidores de p38 han tenido un éxito muy limitado en los ensayos clínicos debido a la toxicidad limitante de la dosis y a la falta de eficacia. De los 36 ensayos clínicos de fase II de inhibidores de p38 enumerados en www.clinicaltrials.gov, sólo se han publicado o incluido en ClinicalTrials.gov los resultados de 8 estudios, que mostraron escasos beneficios clínicos y una toxicidad moderada.

Todos los inhibidores de p38 disponibles bloquean la actividad catalítica, ya sea compitiendo directamente por la unión del ATP o provocando alostéricamente cambios conformacionales que impiden el acceso del ATP al sitio catalítico. Davidson *et al.* identificaron un supuesto inhibidor de p38 α selectivo de sustrato, CMPD1, que inhibió selectivamente la fosforilación de MK2 en ensayos de cinasas *in vitro*, pero se unía cerca del sitio activo de p38 α y posteriormente se demostró que carecía de selectividad de sustrato en las células. Casi todos los inhibidores disponibles son activos tanto contra p38 α como contra p38 β , y algunos son activos contra isoformas adicionales. Sin embargo, estudios genéticos y farmacológicos han identificado p38 α como la isoforma proinflamatoria, mientras que otros estudios han demostrado que la señalización de p38 β es citoprotectora. Por lo tanto, la inhibición de p38 β puede contribuir tanto a la falta de eficacia como a la toxicidad de los inhibidores de p38 no selectivos de isoforma. Sin embargo, la amplia conservación estructural del módulo catalítico en la mayoría de las proteínas cinasas supone un reto para el desarrollo de inhibidores catalíticos con alta selectividad, especialmente para isoformas de p38 individuales.

Sin desear quedar ligados a teoría particular alguna, se cree que aunque los inhibidores catalíticos fueran absolutamente selectivos para p38 α , estos compuestos por diseño bloquearían todos los eventos de señalización de p38 α , muchos de los cuales son esenciales para restablecer y mantener la homeostasis. Por ejemplo, p38 α no sólo activa la expresión de citocinas proinflamatorias, sino que activa citocinas antiinflamatorias y la proteína fosfatasa-2 de doble especificidad contrarreguladora (DUSP2) a través del sustrato de p38 α , MSK1/2. El descenso transitorio y el posterior repunte de los niveles séricos de proteína C reactiva (RCP) observados en ensayos clínicos de inhibidores catalíticos de p38 podrían deberse a la pérdida de la señalización antiinflamatoria dependiente de MSK1/2.

Como alternativa a los inhibidores catalíticos, en algunas realizaciones, los compuestos y métodos de la invención se dirigen al surco de unión a sustrato de p38 α , que se extiende entre dos parches ácidos, los dominios CD y ED, y es distinto del bolsillo de unión a sustrato DEF. Sustratos posteriores, cinasas activadoras anteriores y, posiblemente, moléculas de armazón, todos interactúan con p38 a través de estos sitios. En algunas realizaciones, se usó el diseño de fármacos asistido por ordenador (CADD) y/o el diseño racional para dirigir compuestos de bajo peso molecular a un bolsillo próximo al sitio de unión a sustrato ED de p38 α , que es necesario para la fosforilación de la proteína cinasa 2 activada por MAPK (MAPKAPK2; MK2), un sustrato de p38 α conocido por mediar la permeabilidad endotelial y la migración transendotelial de neutrófilos (TEM) *in vitro* y el edema pulmonar en un modelo de lesión pulmonar en ratón; mientras que MSK1/2 antiinflamatoria se une al sitio CD. Usando este algoritmo, se identificaron compuestos de unión a p38 α de alta eficiencia, compuestos capaces de: estabilizar la función de barrera endotelial en las células endoteliales microvasculares pulmonares humanas (HMVECL), inhibir la expresión génica proinflamatoria inducida por LPS en células THP1 y ser bien tolerados y más potentes que SB203580 en la mitigación de la LPA experimental.

Lesión pulmonar aguda tratada con los inhibidores de MAPK p38 α y los métodos descritos en el presente documento

El síndrome de dificultad respiratoria agudo (SDRA) es una causa frecuente de insuficiencia respiratoria, que tiene una mortalidad del 30-40 % y carece de opciones terapéuticas eficaces. La señalización de p38 es importante en la patogenia del SDRA, pero los ensayos clínicos de inhibidores de p38, todos los cuales inactivan el sitio catalítico de p38 y bloquean la fosforilación de todos los sustratos de p38, han sido decepcionantes debido a la toxicidad limitante de la dosis.

El síndrome de dificultad respiratoria agudo (SDRA) se caracteriza por la aparición aguda de edema pulmonar no hidrostático provocado predominantemente por la lesión del epitelio alveolar mediada por neutrófilos y la disfunción de la barrera endotelial capilar. Una compleja red de mediadores pro y antiinflamatorios activados en asociación con el SDRA es fundamental para la patogenia de la lesión pulmonar aguda (LPA), así como para el fallo multiorgánico que suele acompañar al SDRA. Sin embargo, los agentes terapéuticos dirigidos a los mediadores proinflamatorios han demostrado ser ineficaces en el SDRA. La lesión del parénquima pulmonar provoca una reducción de la distensibilidad, derivación intrapulmonar y ventilación-perfusión desajustada que por lo general requiere ventilación mecánica. Sin embargo, el reclutamiento/desreclutamiento cíclico de alvéolos y la sobredistensión provocados por la ventilación mecánica pueden provocar a su vez inflamación dependiente de neutrófilos y lesiones pulmonares incluso en pulmones previamente normales. La apreciación de este mecanismo condujo a un ensayo clínico aleatorizado de fase III que demostró que la ventilación mecánica con volúmenes corrientes bajos mejora la supervivencia en pacientes con SDRA. Se ha demostrado que dos maniobras de soporte adicionales mejoran la mortalidad en pacientes con SDRA grave, el bloqueo neuromuscular y la colocación en decúbito prono. Se demostró que una tercera intervención, la gestión conservadora de fluidos, disminuye la duración de la ventilación mecánica y la estancia en la UCI, pero no la mortalidad. A pesar de estas mejoras en los cuidados de apoyo, la mortalidad en pacientes con SDRA sigue siendo

del 30-40 %, con aproximadamente 74.500 muertes al año en los Estados Unidos, lo que subraya la importancia de desarrollar nuevas terapias dirigidas a los mecanismos patogénicos pertinentes.

Las proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK) p38 son una familia de cinasas activadas por estrés y citocinas que se activan por muchas de las señales patogénicas asociadas al SDRA, incluyendo mediadores inflamatorios, hipotermia de rango febril (FRH) y estiramiento cíclico. Puesto que MAPK p38 se activa en pacientes con riesgo de SDRA y, como se analiza a continuación, MAPK p38 participa en múltiples procesos que contribuyen a la patogenia del SDRA, esta familia de MAPK presenta una intrigante diana terapéutica en el SDRA. Como prueba de este concepto, el compuesto prototípico de piridinil imidazol SB203580, que inhibe la actividad cinasa de p38 α y β , pero no de p38 γ o δ , ha demostrado bloquear múltiples procesos que contribuyen a la patogenia del SDRA. La señalización de p38 endotelial se activa por la unión de neutrófilos y es necesaria para la migración transendotelial de neutrófilos (TEM). La reticulación de ICAM-1 en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) estimula la activación de p38 α , la fosforilación de HSP27, la reorganización de la F-actina, la agregación de ICAM-1 y la rigidez celular, y aumenta la migración de neutrófilos a las uniones intercelulares de HUVEC, todo lo cual se bloquea por SB203580. La reticulación de E-selectina en HUVEC activa p38 y la reorganización del citoesqueleto dependiente de p38, la formación de fibras de estrés y la TEM de neutrófilos. De manera similar, la ligadura de ICAM-1 de las integrinas β 2 en los neutrófilos activa la p38 de los neutrófilos y la quimiotaxis dependientes de p38. El pretratamiento con un inhibidor de p38 fue protector en un modelo en ratón de lesión pulmonar inducida por ventilador, lesión pulmonar inducida por complemento y lesión pulmonar asociada a un modelo de sepsis por punción y ligadura cecal, pero no la hemorragia y la lesión pulmonar inducida por endotoxemia. Se demostró que la disfunción exagerada de la barrera endotelial provocada por FRH (aumento de 2-3 °C de la temperatura central) en LPA experimental se asocia a la activación de p38 y se bloquea por SB203580. La eficacia de SB203580 en la mitigación de múltiples procesos patogénicos que contribuyen a la lesión pulmonar aguda y la expresión relativamente alta de p38 α y β en el pulmón humano respaldan una función fundamental de estas dos isoformas de p38 en la patogenia del SDRA.

A pesar de estos datos preclínicos persuasivos, sólo ha habido un ensayo clínico que comienza a evaluar la inhibición de p38 como estrategia terapéutica en el SDRA. Este ensayo inicial de fase IIa de SB-681323/dilmapimod en pacientes con riesgo de SDRA (n.º de clinicaltrials.gov NCT00996840) demostró que el dilmapimod era seguro a las dosis administradas y reducía modestamente los niveles séricos de proteína C reactiva (RCP), pero no tenía potencia para analizar los efectos sobre la incidencia o la gravedad del SDRA. Actualmente hay un total de 74 ensayos clínicos de inhibidores de p38 enumerados en www.clinicaltrials.gov, incluyendo 26 de Fase I, 47 de Fase II y uno de Fase III. Los ensayos de Fase II y III probaron la seguridad y eficacia de diez inhibidores catalíticos de p38 diferentes para 13 enfermedades/indicaciones distintas, incluyendo analgesia (6 ensayos), osteoartritis (2 ensayos), artritis reumatoide (13 ensayos), enfermedad de Alzheimer (2 ensayos), espondilitis anquilosante (1 ensayo), miocardiopatía (1 ensayo), psoriasis (2 ensayos), aterosclerosis (5 ensayos), depresión (2 ensayos), EPOC (8 ensayos), SDRA de riesgo (1 ensayo), cáncer (4 ensayos) y glomeruloesclerosis (1 ensayo). Aunque sólo una parte de los datos es de dominio público, el fracaso de la mayoría de estos fármacos parece haberse debido a perfiles adversos de efectos secundarios o a la falta de eficacia a las dosis utilizadas. De los 48 ensayos de Fase II y III, 36 han concluido y 3 han finalizado anticipadamente, pero sólo se han publicado o incluido en ClinicalTrials.gov los resultados de 8 estudios. Dos ensayos de VX-702 en artritis reumatoide mostraron pequeños aumentos en la proporción de sujetos tratados con puntuación de síntomas ACR20 frente a placebo. De dos estudios publicados de inhibidores de p38 para el dolor, uno informó de una modesta reducción del dolor y el otro de ningún efecto. De dos estudios publicados sobre inhibidores de p38 en EPOC, uno no mostró ningún efecto y el otro mostró un aumento de 100 ml en el FEV1 y una disminución de los niveles séricos de CRP en el grupo de tratamiento, pero con toxicidad asociada (erupción cutánea, faringitis, QTc prolongado). GW85655 (losmapimod), mejoró la relajación vascular y redujo la RCP sérica en pacientes con hipercolesterolemia. En un noveno ensayo clínico, que no figuraba en clinicaltrials.gov, BIRB 796 (doramapimod) no tuvo efectos clínicos en pacientes con enfermedad de Crohn, pero redujo transitoriamente los niveles séricos de RCP. De manera colectiva, estos estudios demuestran el potencial terapéutico de la inhibición de p38 en una amplia gama de enfermedades humanas, pero subrayan la limitada eficacia de los inhibidores de p38 actualmente disponibles a dosis que puedan administrarse con seguridad a los seres humanos.

Las MAPK p38, como la mayoría de las proteína cinasas, comparten una estructura bialobulada conservada y un sitio catalítico, con su bolsillo de unión a ATP hidrófobo, ubicado entre los lóbulos N-terminal y C-terminal. La mayoría de los inhibidores de proteína cinasas disponibles compiten con el ATP para unirse al bolsillo de unión a ATP del sitio catalítico, pero la amplia conservación estructural del módulo catalítico en la mayoría de las proteína cinasas supone un reto para el desarrollo de inhibidores catalíticos de p38 con alta especificidad. Puesto que el inhibidor de piridinil imidazol SB203580 se une al sitio de unión a ATP de p38 α y β , pero su acceso al sitio de unión a ATP de p38 γ y δ está bloqueado por una metionina voluminosa, se usa como inhibidor específico de p38 α y β . Sin embargo, el análisis proteómico identificó varias cinasas adicionales que fueron inhibidas por SB203580 con una CI_{50} submicromolar, incluyendo la proteína cinasa reguladora de la apoptosis similar a caspasa de interacción similar a Rip (RICK/Rip2), la caseína cinasa (CK)-1 δ y la cinasa asociada a ciclina G (GAK).

Se descubrió una nueva clase de compuestos de diaril urea en un cribado bioquímico de alto rendimiento en busca de inhibidores de p38. En lugar de unirse directamente al bolsillo de unión a ATP, estos compuestos se unen a un sitio alostérico que induce un cambio conformacional en p38 que impide el acceso de ATP a su bolsillo de unión en el sitio catalítico. Tres inhibidores alostéricos de p38, BIRB 796/doramapimod, GW856553/losmapimod y SB-

681323/dilmapimod, han entrado en ensayos clínicos, pero como los que compiten con ATP, no han superado la fase II de ensayos, salvo el estudio LATITUDE, un ensayo en curso de fase III de losmapimod en pacientes con síndrome coronario agudo (N.º de clinicaltrials.gov NCT02145468). Puesto que los inhibidores alostéricos no se ven afectados por la presencia de la metionina que bloquea la entrada, estos compuestos inhiben las cuatro isoformas de p38, pero BIRB 796 también inhibe potentemente Jnk2α2 con una CI_{50} de 0,1 μM y c-Raf-1 con una CI_{50} de 1,4 μM. La falta de especificidad de los inhibidores de p38 que compiten con ATP y alostéricos es probablemente una de las principales causas de toxicidad.

Una fuente igualmente importante de toxicidad de los inhibidores de p38 deriva probablemente de la amplia gama de funciones de cada isoforma de MAPK p38. Puesto que ambos tipos de inhibidores bloquean el sitio catalítico de p38, los inhibidores que compiten con ATP y alostéricos bloquean todos los eventos de fosforilación de p38. Puesto que p38 fosforila al menos 66 sustratos reconocidos con importante actividad biológica, la toxicidad limitante de la dosis puede ser inevitable con estos agentes.

Los miembros de la familia MAPK p38 y ERK comparten una característica estructural, un surco de unión a sustrato situado en el lóbulo C-terminal de la proteína, en el lado opuesto al dominio catalítico. El surco de unión se extiende entre dos parches ácidos, los dominios CD y ED. Esta región de p38 no sólo se une a sustratos de p38, sino también a cinasas y proteínas de armazón posteriores. El grupo de los presentes inventores ha desarrollado previamente una nueva clase de inhibidores de ERK1/2 MAPK con un perfil de toxicidad mejorado usando el diseño de fármacos asistido por ordenador (CADD) para identificar pequeñas moléculas dirigidas al surco de unión a sustrato en lugar de al módulo catalítico de ERK2. Como se describe en el presente documento, puede emplearse una estrategia similar para identificar compuestos de bajo peso molecular dirigidos a un bolsillo próximo al sitio de unión a sustrato ED de p38α, que se requiere para la fosforilación de MK2, un sustrato de p38 conocido por mediar en la permeabilidad endotelial pulmonar *in vitro* y el edema pulmonar en un modelo de lesión pulmonar en ratón. Usando CADD para buscar en una base de datos de compuestos disponibles en el mercado, se han identificado 150 compuestos de bajo peso molecular que se predice que se unen al bolsillo diana cerca del sitio de unión ED de la diana de p38α. De esta lista se obtuvieron veinte compuestos estructuralmente distintos, se cribaron para determinar su unión selectiva a p38α pero no a ERK2 mediante fluorimetría diferencial de barrido (DSF), después, se analizaron para determinar su capacidad para reducir los cambios patógenos de la barrera endotelial en las células endoteliales microvasculares pulmonares humanas (HMVECL) y la expresión de citocinas en los monocitos THP1 *in vitro*, y para mitigar la LPA inducida en ratones. De los 20 compuestos seleccionados por CADD probados, cinco se unieron a p38α con suficiente afinidad para ser detectadas por DSF, dos se unieron selectivamente a p38α pero no a ERK2 y fueron más eficaces que SB203580 en la estabilización de la función de barrera endotelial *in vitro*, y uno de estos compuestos fue bien tolerado y más potente que SB203580 en la mitigación de la LPA experimental.

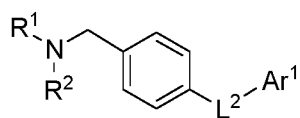
En determinadas realizaciones, los inhibidores de MAPK p38α descritos en el presente documento pueden utilizarse en el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria agudo (SDRA) y/o la lesión pulmonar aguda (LPA).

Inhibidores de MAPK p38α y métodos de inhibición de MAPK p38α

En una realización, la invención incluye compuestos que pueden ser inhibidores de MAPK p38α y/o moduladores de la actividad de la proteína MAPK p38α, por ejemplo, compuestos capaces de unirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de la MAPK p38α, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco de los mismos. En una realización, el inhibidor de MAPK p38α es un inhibidor selectivo de MAPK p38α. En una realización, el inhibidor de MAPK p38α se une a MAPK p38α cerca del surco de unión a sustrato de MAPK p38α, que se extiende entre dos parches ácidos, los dominios CD y ED. En otras realizaciones, el inhibidor de MAPK p38α provoca la inhibición de la fosforilación de MK2.

En una realización, se ha identificado un compuesto líder inhibidor de MAPK p38α, que tiene efectos biológicos favorables en modelos de cultivo de células humanas y en un modelo en ratón de lesión pulmonar inflamatoria. En una realización, se ha identificado un inhibidor de MAPK p38α mediante una estrategia de CADD. El bolsillo diana de CADD en p38α difería del bolsillo correspondiente en p38β en 3 de 10 aminoácidos, lo que proporcionó una oportunidad para la selectividad por p38α. En algunas realizaciones, la secuencia del bolsillo diana incluye al menos los aminoácidos R49, H107, L108 y K165 en MAPK p38α. En algunas realizaciones, la secuencia del bolsillo diana es R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38α. En una realización, se ha identificado un inhibidor de MAPK p38α por medio de una estrategia de diseño racional.

En una realización, el inhibidor de MAPK p38α es un compuesto de Fórmula II, y puede seleccionarse de uno cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089 de la Tabla 1. En el presente documento también se divulgan compuestos de las Fórmulas 1001-1084 y 1090-1180, pero no forman parte de la invención:



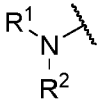
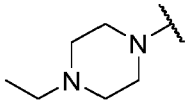
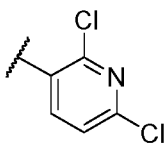
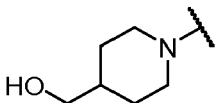
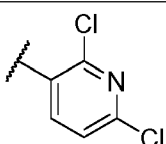
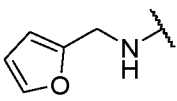
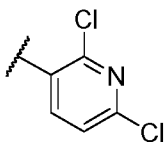
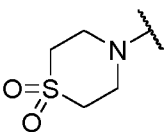
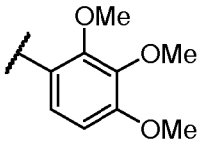
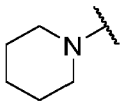
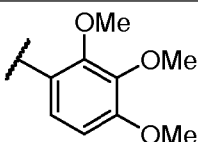
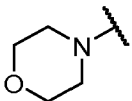
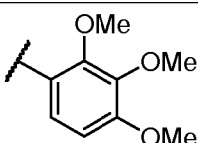
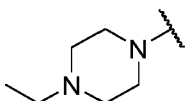
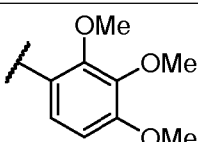
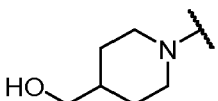
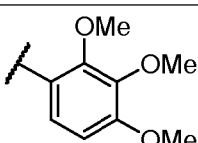
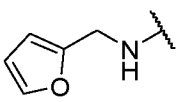
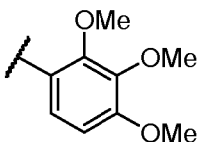
Fórmula II

5

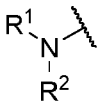
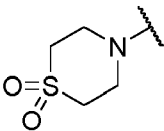
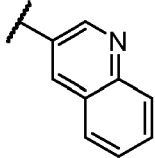
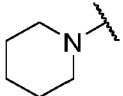
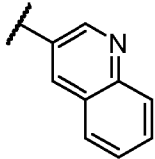
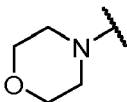
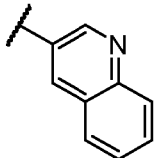
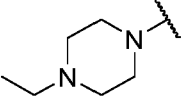
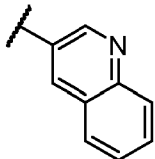
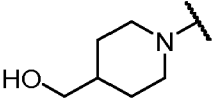
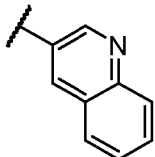
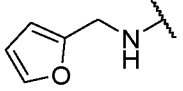
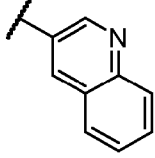
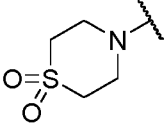
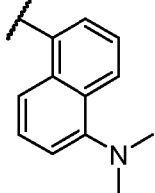
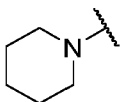
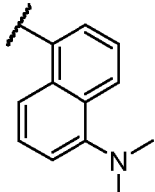
Tabla 1

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1001		-NHCH₂-	
1002		-NHCH₂-	
1003		-NHCH₂-	
1004		-NHCH₂-	
1005		-NHCH₂-	
1006		-NHCH₂-	
1007		-NHCH₂-	
1008		-NHCH₂-	
1009		-NHCH₂-	

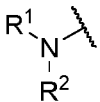
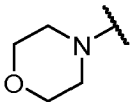
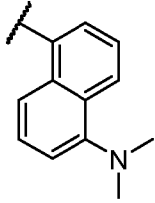
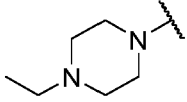
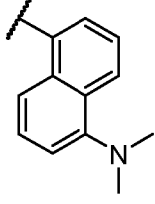
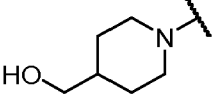
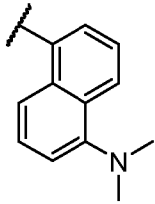
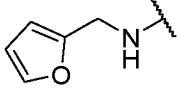
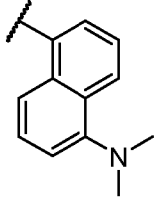
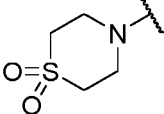
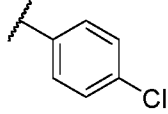
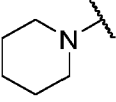
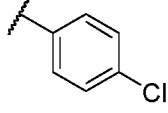
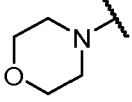
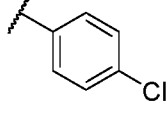
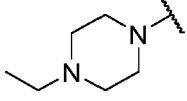
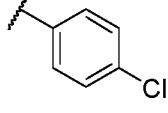
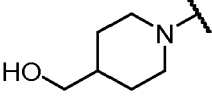
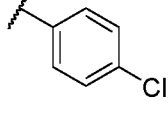
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1010		-NHCH ₂ -	
1011		-NHCH ₂ -	
1012		-NHCH ₂ -	
1013		-NHCH ₂ -	
1014		-NHCH ₂ -	
1015		-NHCH ₂ -	
1016		-NHCH ₂ -	
1017		-NHCH ₂ -	
1018		-NHCH ₂ -	

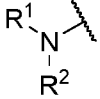
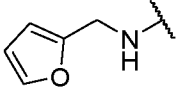
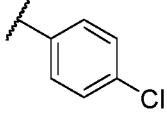
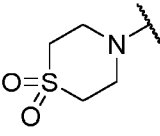
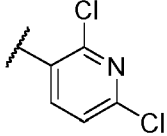
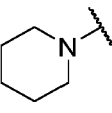
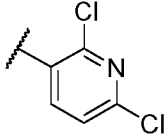
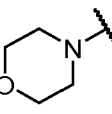
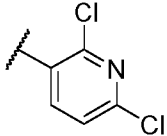
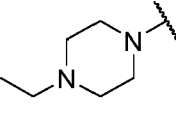
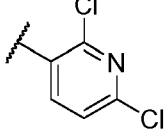
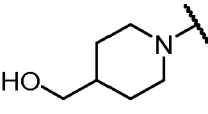
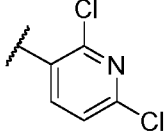
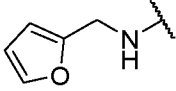
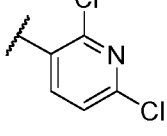
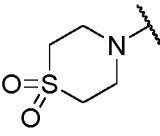
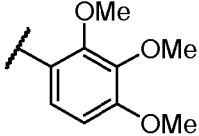
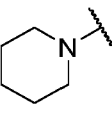
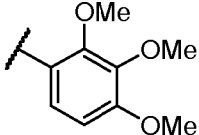
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1019		-NHCH ₂ -	
1020		-NHCH ₂ -	
1021		-NHCH ₂ -	
1022		-NHCH ₂ -	
1023		-NHCH ₂ -	
1024		-NHCH ₂ -	
1025		-NHCH ₂ -	
1026		-NHCH ₂ -	

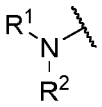
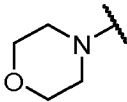
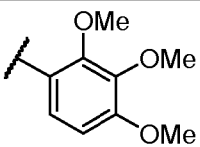
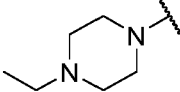
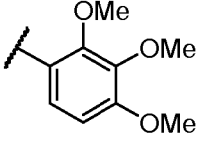
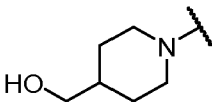
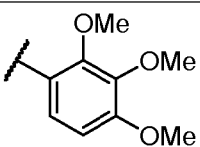
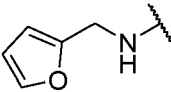
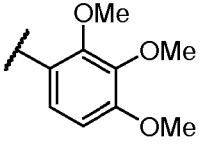
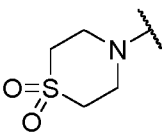
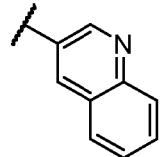
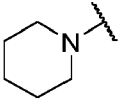
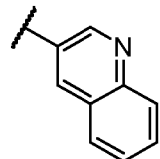
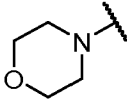
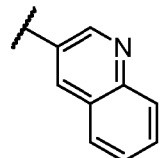
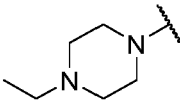
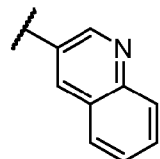
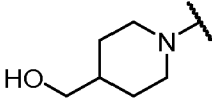
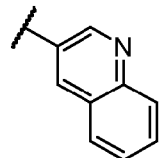
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1027		-NHCH ₂ -	
1028		-NHCH ₂ -	
1029		-NHCH ₂ -	
1030		-NHCH ₂ -	
1031 (UM101)		-NHCO-	
1032		-NHCO-	
1033		-NHCO-	
1034		-NHCO-	
1035		-NHCO-	

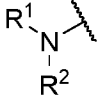
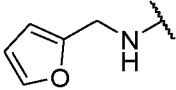
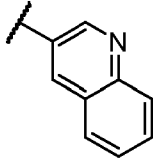
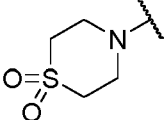
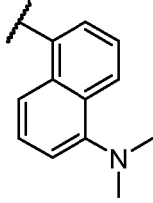
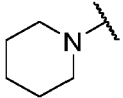
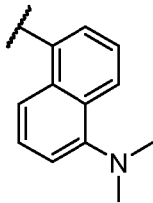
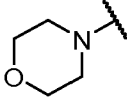
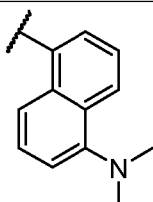
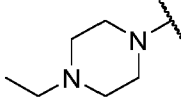
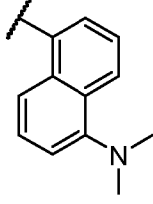
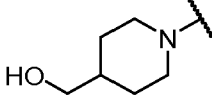
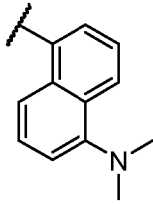
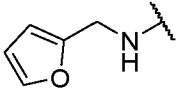
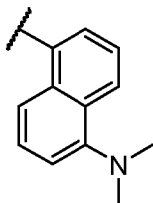
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1036		-NHCO-	
1037		-NHCO-	
1038		-NHCO-	
1039		-NHCO-	
1040		-NHCO-	
1041		-NHCO-	
1042		-NHCO-	
1043		-NHCO-	
1044		-NHCO-	

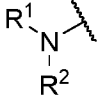
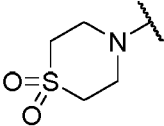
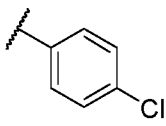
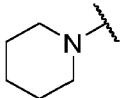
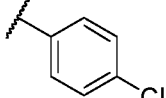
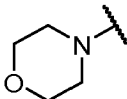
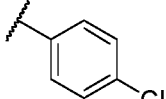
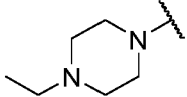
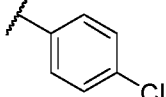
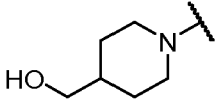
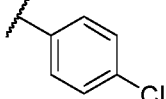
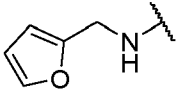
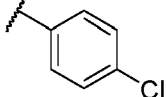
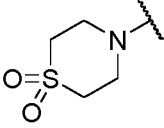
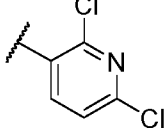
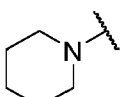
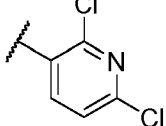
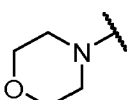
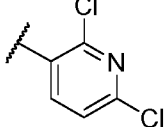
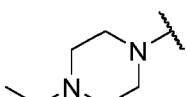
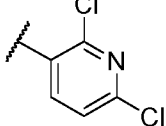
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1045		-NHCO-	
1046		-NHCO-	
1047		-NHCO-	
1048		-NHCO-	
1049		-NHCO-	
1050		-NHCO-	
1051		-NHCO-	
1052		-NHCO-	
1053		-NHCO-	

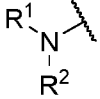
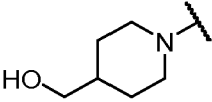
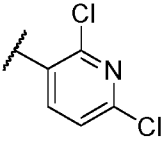
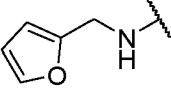
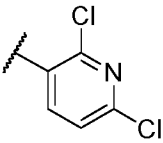
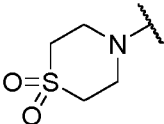
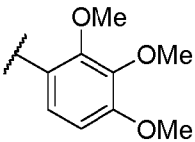
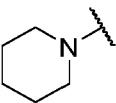
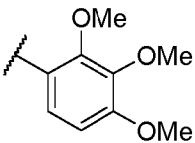
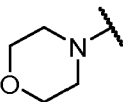
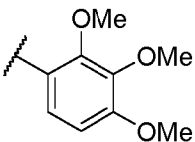
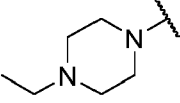
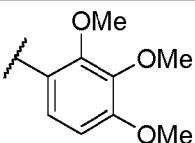
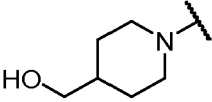
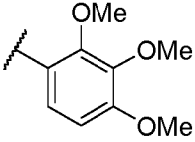
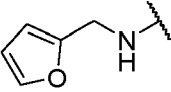
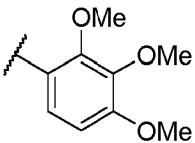
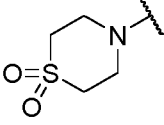
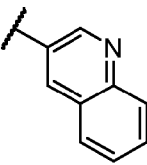
(continuación)

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1054		-NHCO-	
1055		-NHCO-	
1056		-NHCO-	
1057		-NHCO-	
1058		-NHCO-	
1059		-NHCO-	
1060		-NHCO-	

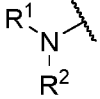
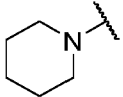
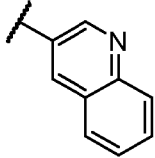
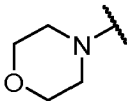
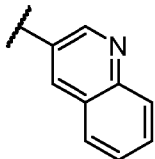
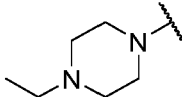
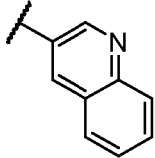
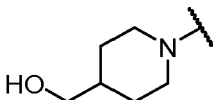
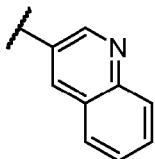
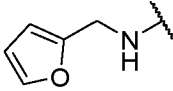
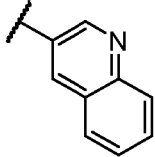
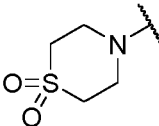
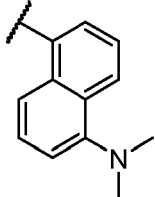
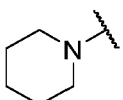
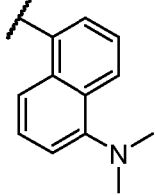
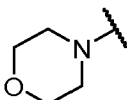
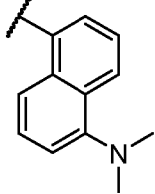
(continuación)

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1061		-NHSO₂-	
1062		-NHSO₂-	
1063		-NHSO₂-	
1064		-NHSO₂-	
1065		-NHSO₂-	
1066		-NHSO₂-	
1067		-NHSO₂-	
1068		-NHSO₂-	
1069		-NHSO₂-	
1070		-NHSO₂-	

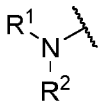
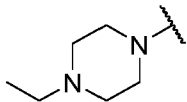
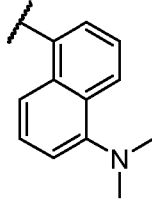
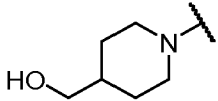
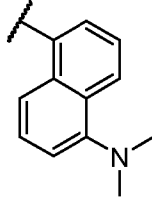
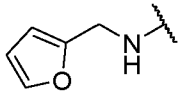
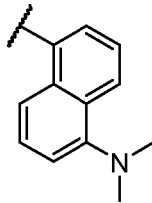
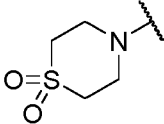
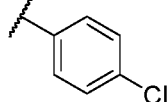
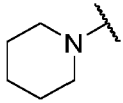
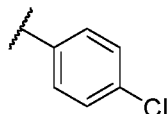
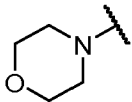
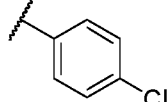
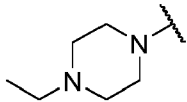
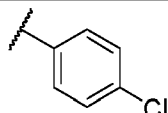
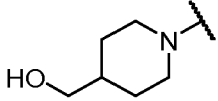
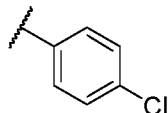
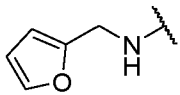
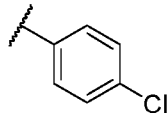
(continuación)

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1071		-NHSO ₂ -	
1072		-NHSO ₂ -	
1073		-NHSO ₂ -	
1074		-NHSO ₂ -	
1075		-NHSO ₂ -	
1076		-NHSO ₂ -	
1077		-NHSO ₂ -	
1078		-NHSO ₂ -	
1079		-NHSO ₂ -	

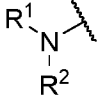
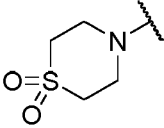
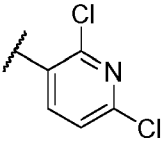
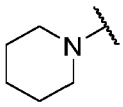
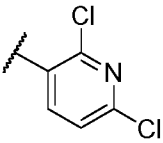
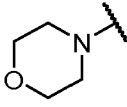
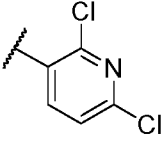
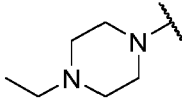
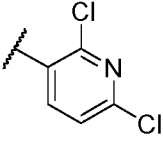
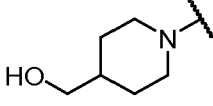
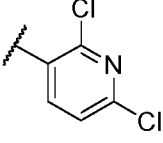
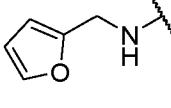
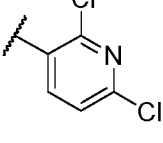
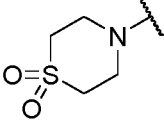
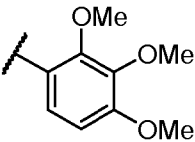
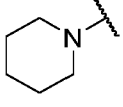
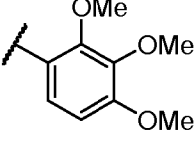
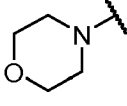
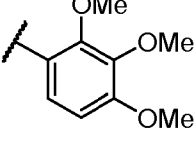
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1080		-NHSO ₂ ⁻	
1081		-NHSO ₂ ⁻	
1082		-NHSO ₂ ⁻	
1083		-NHSO ₂ ⁻	
1084		-NHSO ₂ ⁻	
1085		-NHSO ₂ ⁻	
1086		-NHSO ₂ ⁻	
1087		-NHSO ₂ ⁻	

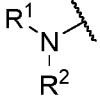
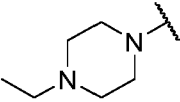
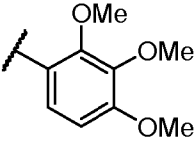
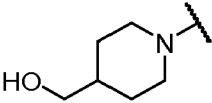
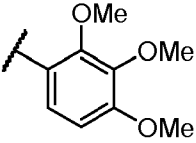
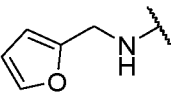
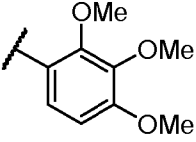
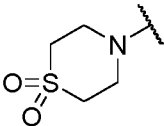
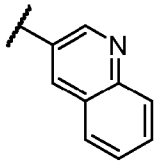
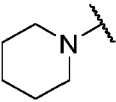
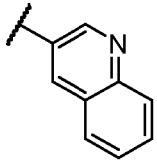
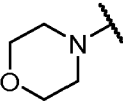
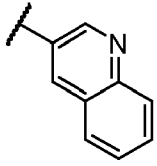
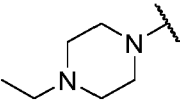
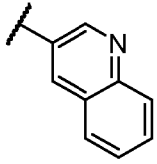
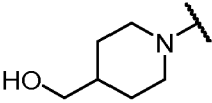
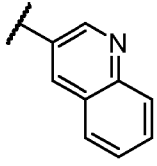
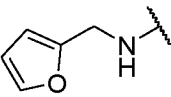
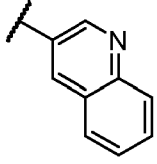
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1088		-NHSO ₂ -	
1089		-NHSO ₂ -	
1090		-NHSO ₂ -	
1091		-CH ₂ NH-	
1092		-CH ₂ NH-	
1093		-CH ₂ NH-	
1094		-CH ₂ NH-	
1095		-CH ₂ NH-	
1096		-CH ₂ NH-	

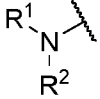
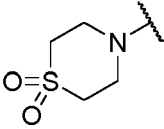
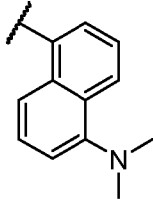
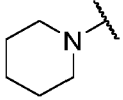
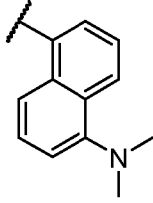
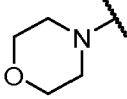
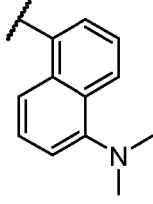
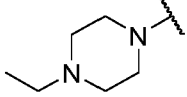
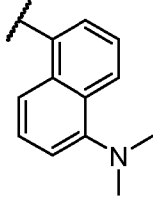
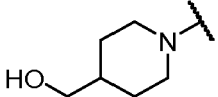
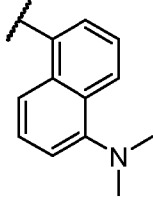
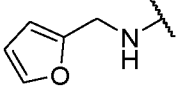
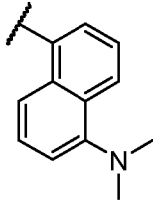
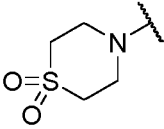
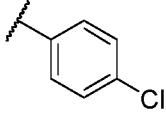
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1097		-CH ₂ NH-	
1098		-CH ₂ NH-	
1099		-CH ₂ NH-	
1100		-CH ₂ NH-	
1101		-CH ₂ NH-	
1102		-CH ₂ NH-	
1103		-CH ₂ NH-	
1104		-CH ₂ NH-	
1105		-CH ₂ NH-	

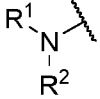
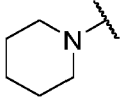
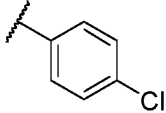
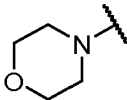
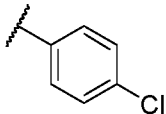
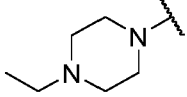
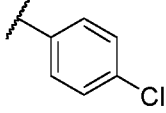
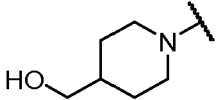
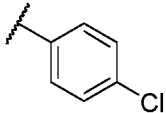
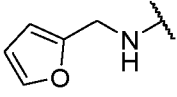
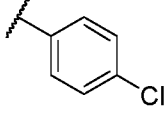
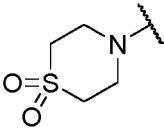
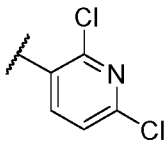
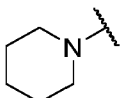
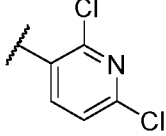
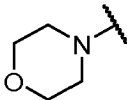
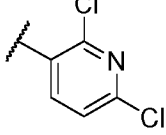
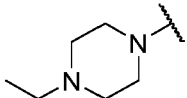
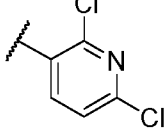
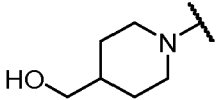
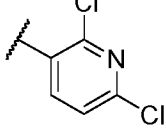
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1106		-CH ₂ NH-	
1107		-CH ₂ NH-	
1108		-CH ₂ NH-	
1109		-CH ₂ NH-	
1110		-CH ₂ NH-	
1111		-CH ₂ NH-	
1112		-CH ₂ NH-	
1113		-CH ₂ NH-	
1114		-CH ₂ NH-	

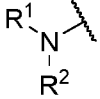
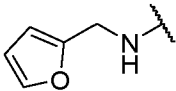
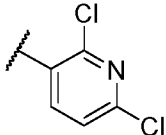
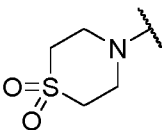
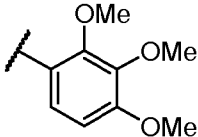
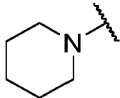
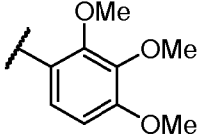
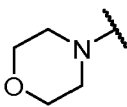
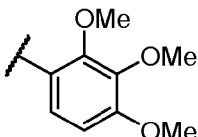
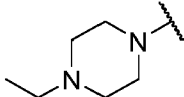
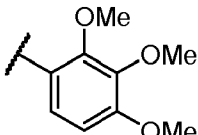
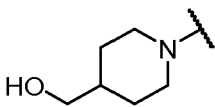
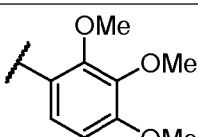
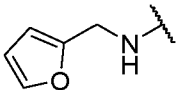
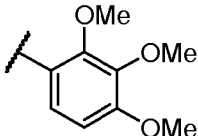
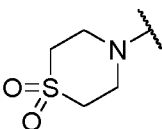
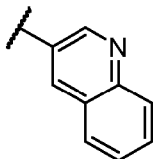
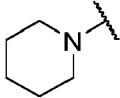
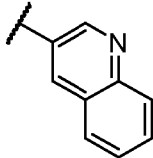
(continuación)

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1115		-CH₂NH-	
1116		-CH₂NH-	
1117		-CH₂NH-	
1118		-CH₂NH-	
1119		-CH₂NH-	
1120		-CH₂NH-	
1121		-CONH-	

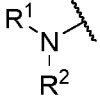
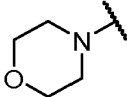
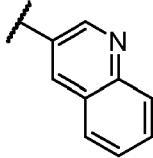
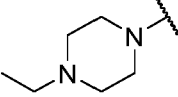
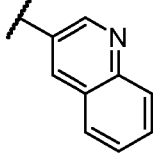
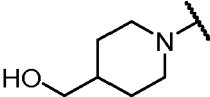
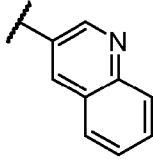
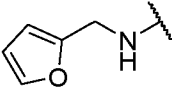
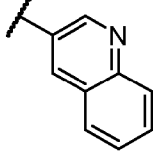
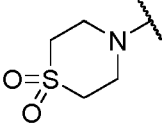
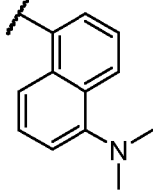
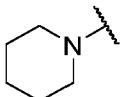
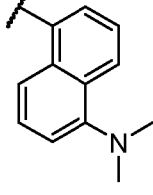
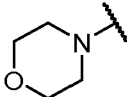
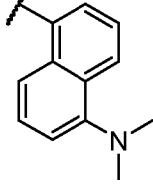
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1122		-CONH-	
1123		-CONH-	
1124		-CONH-	
1125		-CONH-	
1126		-CONH-	
1127		-CONH-	
1128		-CONH-	
1129		-CONH-	
1130		-CONH-	
1131		-CONH-	

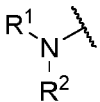
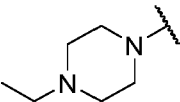
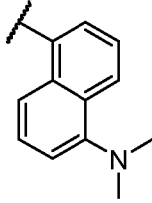
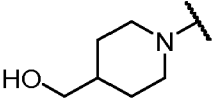
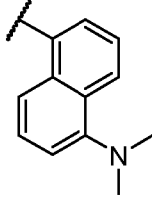
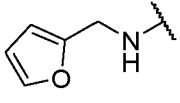
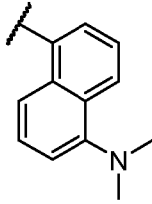
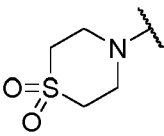
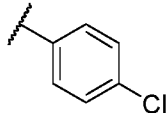
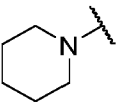
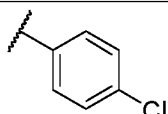
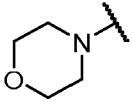
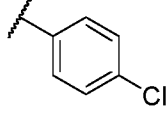
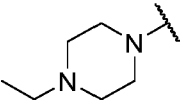
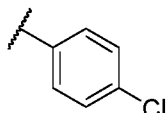
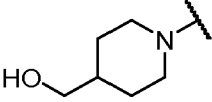
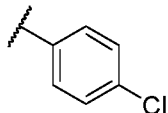
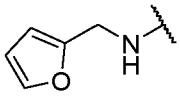
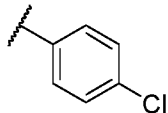
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1132		-CONH-	
1133		-CONH-	
1134		-CONH-	
1135		-CONH-	
1136		-CONH-	
1137		-CONH-	
1138		-CONH-	
1139		-CONH-	
1140		-CONH-	

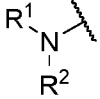
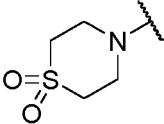
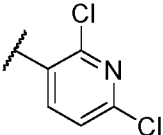
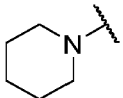
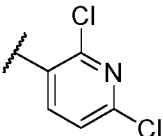
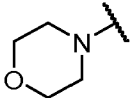
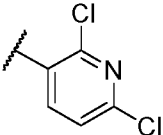
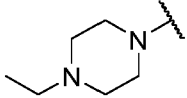
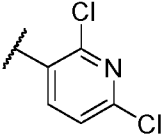
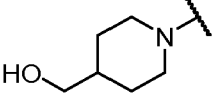
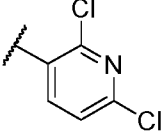
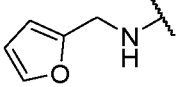
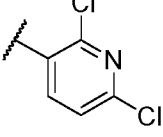
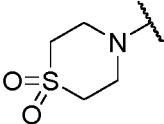
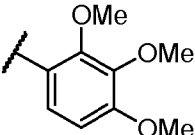
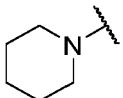
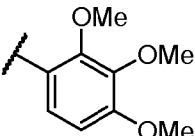
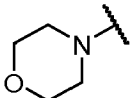
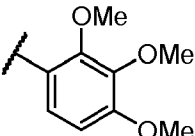
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1141		-CONH-	
1142		-CONH-	
1143		-CONH-	
1144		-CONH-	
1145		-CONH-	
1146		-CONH-	
1147		-CONH-	

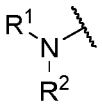
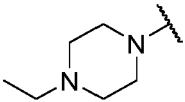
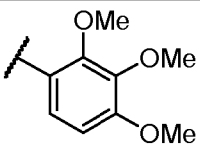
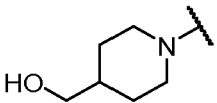
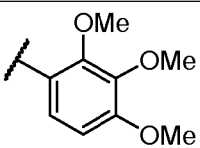
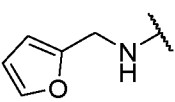
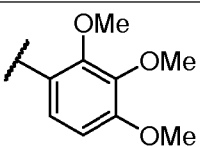
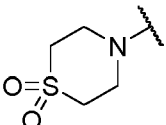
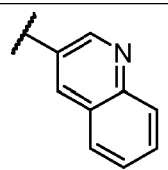
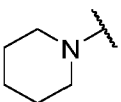
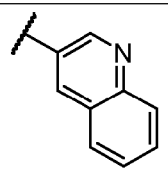
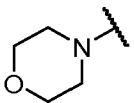
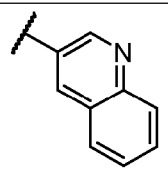
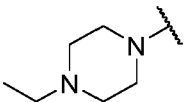
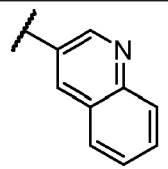
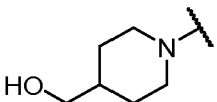
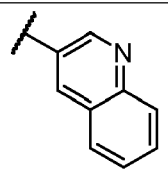
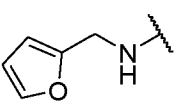
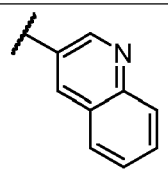
(continuación)

Compuesto N.º		L²	Ar¹
1148		-CONH-	
1149		-CONH-	
1150		-CONH-	
1151		-SO₂NH-	
1152		-SO₂NH-	
1153		-SO₂NH-	
1154		-SO₂NH-	
1155		-SO₂NH-	
1156		-SO₂NH-	

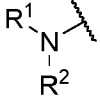
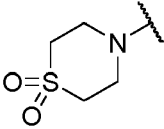
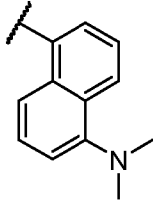
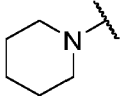
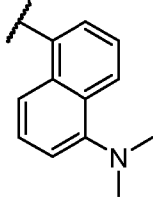
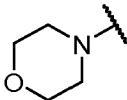
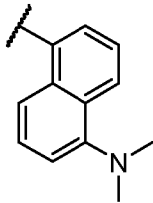
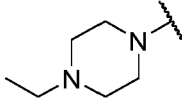
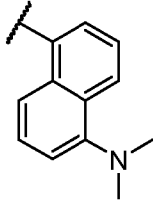
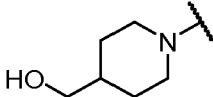
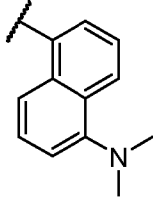
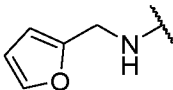
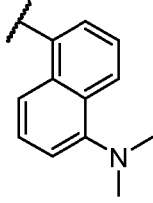
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1157		-SO ₂ NH-	
1158		-SO ₂ NH-	
1159		-SO ₂ NH-	
1160		-SO ₂ NH-	
1161		-SO ₂ NH-	
1162		-SO ₂ NH-	
1163		-SO ₂ NH-	
1164		-SO ₂ NH-	
1165		-SO ₂ NH-	

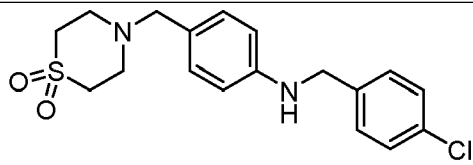
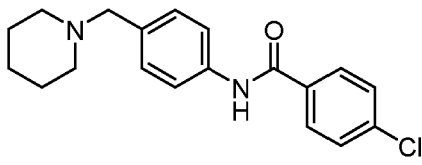
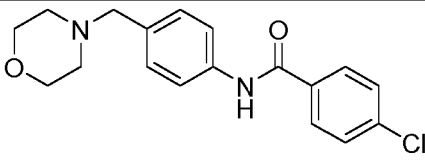
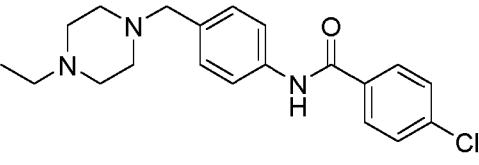
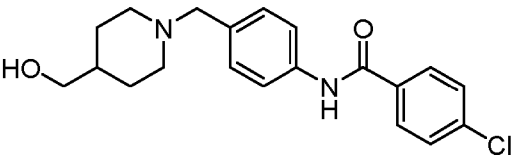
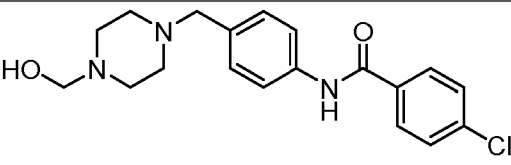
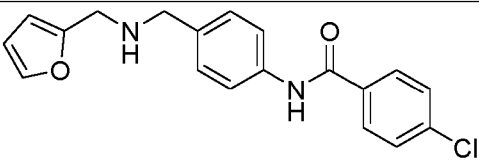
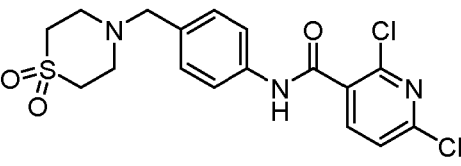
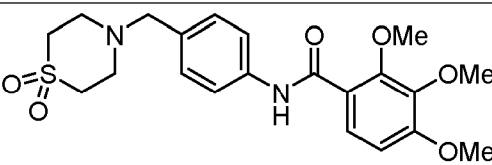
(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1166		-SO ₂ NH-	
1167		-SO ₂ NH-	
1168		-SO ₂ NH-	
1169		-SO ₂ NH-	
1170		-SO ₂ NH-	
1171		-SO ₂ NH-	
1172		-SO ₂ NH-	
1173		-SO ₂ NH-	
1174		-SO ₂ NH-	

(continuación)

Compuesto N.º		L ²	Ar ¹
1175		-SO ₂ NH-	
1176		-SO ₂ NH-	
1177		-SO ₂ NH-	
1178		-SO ₂ NH-	
1179		-SO ₂ NH-	
1180		-SO ₂ NH-	

En una realización, el inhibidor de MAPK p38α es un compuesto de Fórmula 1085 (SF-6-222) o 1087 (SF-7-044). En el presente documento también se divulgan compuestos de las Fórmulas 1001 (SF-6-221), 1032 (SF-7-008), SF-7-009, 1034 (SF-7-010), 1035 (SF-7-011), 1036 (SF-7-012), 1037 (SF-6-217), 1043 (SF-6-223), 1049 (SF-6-224) y 1061 (SF-6-219) pero no forman parte de la invención:

1001 (SF-6-221)	
1032 (SF-7-008)	
SF-7-009	
1034 (SF-7-010)	
1035 (SF-7-011)	
1035-b	
1036 (SF-7-012)	
1037 (SF-6-217)	
1043 (SF-6-223)	

(continuación)

1049 (SF-6-224)	
1061 (SF-6-219)	
1085 (SF-6-222)	
1087 (SF-7-044)	

La unión selectiva de UM101 a p38 α se confirmó usando tecnologías complementarias. DSF, que detecta la estabilización de proteínas inducida por ligandos mostró que UM101 provoca un aumento dependiente de la concentración en la temperatura de fusión de p38 α pero no de p38 β (FIG. 3D). El menor efecto de UM101 en comparación con SB203580 sobre la fusión de p38 α sugiere una menor afinidad de unión a p38 α de los inhibidores selectivos de sustrato frente a los catalíticos, que son inhibidores de ERK selectivos de sustrato similares. El menor efecto de SB203580 sobre p38 β que sobre p38 α es coherente con la conocida afinidad de unión ~10 veces mayor de SB203580 por p38 α . STD-RMN, que mide la unión proteína:ligando de baja afinidad mediante la transferencia de magnetización no escalar de los protones de la proteína al ligando, confirmó la unión específica de UM101 a p38 α y localizó la interacción en sus anillos aromáticos. La unión de UM101 a su diana de CADD también se confirmó al demostrar que la mutación de cuatro de los diez aminoácidos del bolsillo diana anulaba la unión de UM101, mientras que la unión de SB203580 se conservaba.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α provoca un aumento de la temperatura de fusión de MAPK p38 α dependiente de la concentración. La diferencia de temperatura de fusión ΔT_m (°C) se mide a una concentración de inhibidor de MAPK p38 α de entre 1 nM y 1000 μ M. En una realización, la diferencia de temperatura de fusión ΔT_m (°C) se mide a una concentración de inhibidor de MAPK p38 α de 100 μ M. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 2 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 0,05 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 0,1 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 0,03 y aproximadamente 0,7 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 0,06 y aproximadamente 1,5 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 1 °C y aproximadamente 2 °C. En una realización, ΔT_m es de entre aproximadamente 1,5 y aproximadamente 2 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,1 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,2 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,3 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,4 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,5 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,6 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,7 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,8 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,9 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,1 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,2 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,3 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,4 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,5 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,6 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,7 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,8 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 1,9 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 2 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,735 °C. En una realización, ΔT_m es de aproximadamente 0,667 °C.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente -5 y aproximadamente 10. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente -3 y aproximadamente 8. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 0 y aproximadamente 5. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 3. El logP es una medida de la solubilidad del fármaco y se define como el logaritmo del

coeficiente de partición octanol/agua del fármaco. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 1,5. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 0,75 y aproximadamente 2. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2,5. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de entre aproximadamente 1,75 y aproximadamente 3. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 0,1. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 0,25. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 0,5. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 0,75. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 1. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 1,25. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 1,5. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 1,75. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 2. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 2,25. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 2,5. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 2,75. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 3. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 0,28. En una realización, el inhibidor de MAPK p38 α tiene un logP de aproximadamente 2,31.

La fosforilación de MK2 requiere la unión al sitio ED adyacente al bolsillo diana de CADD en MAPK p38 α . En algunas realizaciones, el bolsillo diana está al menos definido por los aminoácidos R49, H107, L108 y K165 en MAPK p38 α . En algunas realizaciones, el bolsillo diana está definido por aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38 α , y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el bolsillo diana está definido por los aminoácidos R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38 α . La transferencia Western confirmó la inhibición parcial de la fosforilación de MK2 en células HeLa estimuladas con anisomicina por UM101, pero menos en comparación con SB203580 10 μ M. SB203580 a una concentración 200 y 20 veces superior a la CI50 para p38 α y p38 β , respectivamente no consiguió bloquear totalmente la fosforilación de MK2, lo que puede reflejar una contribución de p38 γ o δ , ya que ambas isoformas se expresan en las células HeLa.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38 α donde la inhibición de MAPK p38 α estabiliza una función de barrera endotelial o epitelial. Ambos compuestos de unión selectiva a p38 α , UM60 y UM101, ejercieron efectos similares a los de SB203580 sobre la estabilización de la barrera endotelial y la modificación de macrófagos-citocinas, validando de este modo la estrategia de direccionamiento a ED. UM101 estabilizó más eficazmente las barreras endoteliales que SB203580 (FIG. 2A y FIG. 2B) a pesar de que tiene menos efecto sobre la fosforilación de MK2. En una realización, la permeabilidad de la barrera endotelial puede medirse mediante exposición separada o combinada a TNF α e hipertermia, seguido de la medición de la permeabilidad para dextrano de 10 kDa. En una realización, la estabilización de la barrera endotelial se evalúa mediante pretratamiento con un compuesto de la invención, precedido y seguido de mediciones de permeabilidad, donde la estabilización se expresa en % de reducción del aumento de permeabilidad antes y después del pretratamiento. El pretratamiento con un inhibidor de MAPK p38 α puede realizarse a diversas concentraciones, por ejemplo, a 10, 25, 50 o 100 μ M. En una realización, el aumento de permeabilidad para dextrano de 10 kDa puede reducirse entre el 5 % y más del 100 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 5 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 10 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 20 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 30 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 40 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 50 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 60 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 70 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 80 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 90 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 100 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente más del 100 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 71 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 74 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 89 %. En una realización, el aumento de la permeabilidad se reduce en aproximadamente el 100 %.

Puesto que UM101 estabilizó más eficazmente las barreras endoteliales que SB203580 (FIG. 2A y FIG. 2B) a pesar de tener menos efecto sobre la fosforilación de MK2 (FIG. 3C), se evaluaron adicionalmente las acciones moleculares comparando los efectos de UM101 y SB203580 sobre la expresión génica global usando RNASeq en HMVECL tratadas con TNF α . El TNF α aumentó la expresión de 511 genes en ≥ 2 veces, de los cuales 61 se redujeron y 38 aumentaron con el pretratamiento con SB203580 10 μ M. A pesar de usar una concentración de UM101 > 10 veces superior a la necesaria para estabilizar las funciones de barrera del HMVECL (FIG. 2A y FIG. 2B), UM101 modificó la expresión de sólo 38 de los 99 genes modificados por SB203580. El análisis por PathwayNet mostró que UM101 bloqueaba sólo 7 de los 15 factores de transcripción bloqueados por SB203580. MSK1/2 se encontraba entre los no bloqueados por UM101, lo que es coherente con la estrategia de direccionamiento para UM101 al sitio ED, y de forma ventajosa, dadas las acciones antiinflamatorias de MSK1/2.

El solapamiento funcional parcial de UM101 y SB203580 revelado por RNASeq es coherente con el diseño de UM101 como inhibidor selectivo de sustrato no catalítico, pero también podría ser el resultado de efectos inespecíficos de SB203580, que incluyen la Proteína cinasa 2 de Interacción con Receptores, la cinasa asociada a ciclina G y caseína cinasa-1δ. Sin embargo, ninguno de los factores de transcripción inhibidos por SB203580 identificados por el análisis por PathwayNet son sustratos conocidos para estas cinasas según se analizó usando PhosphoNetworks.

Aunque la alta concentración de UM101 utilizada en este análisis puede haber provocado algunas acciones independientes de p38, los datos descritos en el presente documento respaldan la conclusión de que UM101 ejerce sus efectos biológicos predominantemente modificando p38α: (1) La DSF y la STD-RMN muestran una unión específica a p38α de UM101; (2) La unión a p38α de UM101 se anuló mutando 4 de los 10 aminoácidos del bolsillo diana; (3) UM60 y 101 se unen a p38α y ejercen efectos sobre la función endotelial similares a los de SB203580; (4) UM101 bloqueó parcialmente la fosforilación de los sustratos p38 MK2 y Stat-1 en células HeLa estimuladas con TNFα; y (5) UM101 inhibió la expresión de aproximadamente la mitad de los genes inhibidos por SB203580. UM101 puede ser más eficaz que SB203580 en la estabilización de la barrera endotelial debido a su ahorro selectivo de posibles genes contrarreguladores, tales como GM-CSF, genes antiinflamatorios dependientes de MSK1/2 y genes pro-supervivencia dependientes de p38β.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38α, que incluye poner en contacto la MAPK p38α con un compuesto capaz de unirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de la MAPK p38α, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo. En una realización, el compuesto inhibe selectivamente MAPK p38α. En una realización, el inhibidor de MAPK p38α se une a MAPK p38α cerca del surco de unión a sustrato de MAPK p38α, que se extiende entre dos parches ácidos, los dominios CD y ED. En una realización, el bolsillo de unión está definido al menos por los restos R49, H107, L108 y K165 en MAPK p38α. En una realización, el bolsillo de unión está definido por los restos R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38α. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38α provoca un aumento de la temperatura de fusión de MAPK p38α dependiente de la concentración. En otras realizaciones, el inhibidor de MAPK p38α provoca la inhibición de la fosforilación de MK2. El compuesto es de cualquiera de las Fórmulas 1085-1089, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco de los mismos.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38α en el que la inhibición de MAPK p38α no da como resultado la pérdida de respuestas de contrarregulación dependientes de p38α. En algunas realizaciones, la respuesta contrarreguladora dependiente de p38α se refiere a la proteína cinasa-1 activada por mitógenos y estrés (MSK1), o MSK2. Al dirigirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de p38α, los inhibidores descritos en el presente documento evitan interferir con los sustratos específicos de CD, incluyendo MSK1/2, limitando de este modo la inflamación a través de la expresión de IL-10 y DUSP2. Entre los efectos de la supresión de MSK1/2 en ratones se encuentra el aumento y la prolongación de la expresión del regulador de la CRP inducida por LPS, IL-6, lo que sugiere un posible mecanismo del repunte de la RCP sérica observado en algunos ensayos clínicos de inhibidores catalíticos de p38.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38α donde la inhibición de MAPK p38α reduce la inflamación. En una realización, los efectos de un inhibidor de MAPK p38α sobre la expresión de citocinas inflamatorias se comparan pretratando células THP1 diferenciadas con PMA con un inhibidor de MAPK p38α, después estimulando con LPS, y cosechando el ARN un período de tiempo después para su análisis mediante una matriz de citocinas basada en PCR. En algunas realizaciones, un inhibidor de MAPK p38α inhibe la expresión de diversos genes, tales como IL-1A, IL-8, TNFSF8, CXCL5, CCL7, CCL17, TNFSF9, IL-1B, CXCL1, TNFSF15, CCL5, CCL4, CCL20, CXCL2, TNF o BMP6. En algunas realizaciones, un inhibidor de MAPK p38α inhibe la expresión de Smad3, que impulsa la diferenciación de los linfocitos reguladores T Foxp3 y suprime el interferón-gamma. El inhibidor de MAPK p38α puede usarse en cualquier concentración apropiada, por ejemplo, 10, 25, 50 o 100 μM. En una realización, la reducción de la inflamación se mide comparando los niveles de ARNm de factor de cambio frente a células THP1 diferenciadas con PMA no estimuladas a diversas concentraciones de inhibidor de MAPK p38α.

En algunas realizaciones, un inhibidor de MAPK p38α modula la expresión génica inducida por TNFα en HMVECL, como se evidencia usando RNASeq. En una realización, Las HMVECL se pretrataron durante un período de tiempo con un inhibidor de MAPK p38α a una concentración apropiada, por ejemplo 10 μM o 100 μM, y después se estimularon con TNFα durante un período de tiempo. Un inhibidor de MAPK p38α de la invención inhibe genes tales como PRRG4, TSLP, CCL17, EXOC3L4, MMP9, IDO1, CXCL10, CD200, SLC15A3, VDR, IL1B, GPR88, CD207, TCHH, HAS3, GBP1P1, MUC4, ELOVL7, CXCL11, GBP4, PLA1A o CXCL5.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38α donde la inhibición de MAPK p38α mitiga la lesión pulmonar en un sujeto, incluyendo, pero sin limitación, la lesión pulmonar inducida por LPS. En una realización, se comparó la eficacia de un inhibidor de MAPK p38α para mitigar la extravasación transalveolar de proteínas y neutrófilos en un modelo en ratón de LPA inducida por LPS/hipertermia (FIG. 2C y FIG. 2D). En una realización, los sujetos reciben una o más inyecciones intraperitoneales

de un inhibidor de MAPK p38 α a concentraciones tales como 100, 250, 300, 400, 500, 750, 1000 μ g, o similares, en un portador apropiado, por ejemplo, DMSO, un período de tiempo antes de la instilación intratraqueal de LPS, y/o la transferencia a cámaras hipertérmicas. Los lavados pulmonares de los sujetos se miden para determinar proteínas y/o neutrófilos. En comparación con los sujetos de control, se reduce la concentración de proteínas de lavado y el contenido de neutrófilos en sujetos pretratados con un inhibidor de MAPK p38 α . En algunas realizaciones, la reducción es de entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 100 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 5 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 10 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 20 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 30 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 40 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 50 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 60 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 70 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 80 %. En una realización, la reducción es superior a aproximadamente el 90 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 100 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 10 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 20 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 30 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 40 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 50 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 60 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 70 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 80 %. En una realización, la reducción es inferior a aproximadamente el 90 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 100 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 44,1 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 43,9 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 92,9 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 44,4 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 49,5 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 55,3 %. En una realización, la reducción es de aproximadamente el 54 %.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38 α donde la inhibición de p38 α MAPK regula el tráfico de leucocitos.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de inhibición de MAPK p38 α donde la inhibición de MAPK p38 α regula la expresión de citocinas.

Métodos de tratamiento

Los compuestos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse en métodos para tratar enfermedades. En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente memoria pueden usarse en métodos para tratar enfermedades asociadas a la regulación positiva y/o negativa de la proteína MAPK p38 α .

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la proteína MAPK p38 α en un paciente que lo necesite, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38 α , en donde el inhibidor de MAPK p38 α es un compuesto capaz de unirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de la MAPK p38 α , o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo. En una realización, el bolsillo de unión está definido al menos por los restos R49, H107, L108 y K165 en MAPK p38 α . En una realización, el bolsillo de unión está definido por los restos R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38 α . El inhibidor de MAPK p38 α es un compuesto de cualquiera de las Fórmulas 1085-1089, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38 α es un inhibidor selectivo de MAPK p38 α .

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la proteína MAPK p38 α en un paciente que lo necesite, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38 α en forma farmacéutica unitaria. En una realización, la unidad de dosificación comprende un medio portador fisiológicamente compatible.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la proteína MAPK p38 α en un paciente que lo necesite, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38 α , en donde la enfermedad es cáncer o una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la enfermedad es artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) o lesión pulmonar aguda (LPA). En una realización, la enfermedad es una enfermedad hiperproliferativa. En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, cáncer de piel, cáncer de colon, melanoma, melanoma maligno, cáncer de ovario, cáncer de cerebro, carcinoma primario de cerebro, cáncer de cabeza-cuello, glioma, glioblastoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de cabeza o cuello, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, tumor de Wilms, carcinoma de cuello de útero, carcinoma de testículo, carcinoma de vejiga, carcinoma pancreático, carcinoma de estómago, carcinoma de colon, carcinoma de próstata,

carcinoma genitourinario, carcinoma de tiroides, carcinoma de esófago, mieloma, mieloma múltiple, carcinoma suprarrenal, carcinoma de células renales, carcinoma de endometrio, carcinoma de la corteza suprarrenal, insulinoma pancreático maligno, carcinoma carcinoide maligno, coriocarcinoma, micosis fungoide, hipercalcemia maligna, hiperplasia de cuello de útero, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, tricoleucemia, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, policitemia vera, trombocitosis idiopática, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma osteogénico, macroglobulinemia primaria o retinoblastoma, y similares. En otras realizaciones, el cáncer es neuroma acústico, adenocarcinoma, angiosarcoma, astrocitoma, carcinoma basocelular, carcinoma de las vías biliares, carcinoma de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, carcinoma broncogénico, cáncer de cuello de útero, cordoma, coriocarcinoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, cistadenocarcinoma, carcinoma embrionario, endotelio carcinoma, ependimoma, carcinoma epitelial, cáncer de esófago, tumor de Ewing, fibrosarcoma, cáncer gástrico, glioblastoma multiforme, glioma, cáncer de cabeza y cuello, hemangioblastoma, hepatoma, cáncer de riñón, leiomyosarcoma, liposarcoma, cáncer de pulmón, linfangioendoteliosarcoma, linfangiosarcoma, carcinoma medular, meduloblastoma, melanoma, meningioma, mesotelioma, mixosarcoma, cáncer nasal, neuroblastoma, oligodendroglioma, cáncer oral, sarcoma osteogénico, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, adenocarcinoma papilar, carcinoma papilar, pinealoma, cáncer de próstata, rhabdomyosarcoma, cáncer de recto, carcinoma de células renales, retinoblastoma, sarcoma, carcinoma de glándulas sebáceas, seminoma, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer de estómago, carcinoma de glándulas sudoríparas, sinovioma, cáncer de testículo, carcinoma de pulmón microcítico, cáncer de garganta, cáncer de útero, tumor de Wilms, cáncer hemático, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia monoblástica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia aguda no diferenciada, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, tricoleucemia, mieloma múltiple, enfermedad de la cadena pesada, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, policitemia vera o macroglobulinemia de Waldenström.

En algunas realizaciones, el trastorno hiperproliferativo (por ejemplo, cáncer) tratado mediante los compuestos y composiciones descritos en el presente documento incluye células que tienen expresión de proteína MAPK p38α y/o proteína relacionada con MAPK p38α.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la proteína MAPK p38α en un paciente que lo necesite, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38α, en donde el inhibidor de MAPK p38α es un compuesto capaz de unirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de la MAPK p38α, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo, y uno o más agentes terapéuticos adicionales, incluyendo agentes quimioterápicos y/o inmunoterápicos.

La eficacia de los compuestos y combinaciones de compuestos descritos en el presente documento en el tratamiento de las enfermedades o trastornos indicados puede probarse usando diversos modelos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento, que orientan sobre el tratamiento de enfermedades humanas. Todos y cada uno de los métodos de tratamiento descritos pueden incluir un seguimiento médico para determinar el efecto terapéutico o profiláctico producido en el sujeto sometido a tratamiento con el compuesto o compuestos y/o composiciones descritos en el presente documento.

Composiciones farmacéuticas

En una realización, un principio activo farmacéutico o combinación de principios activos farmacéuticos, tales como cualesquiera de los inhibidores de MAPK p38α de la invención, se proporciona en forma de una composición farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38α para el tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la actividad de MAPK p38α en un paciente que lo necesite, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo; y un medio portador fisiológicamente compatible; en donde el inhibidor de MAPK p38α es un compuesto capaz de unirse a un bolsillo próximo al sitio de acoplamiento de sustrato ED de MAPK p38α. En una realización, el bolsillo de unión está definido al menos por los restos R49, H107, L108 y K165 en MAPK p38α. En una realización, el bolsillo de unión está definido por los restos R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164 y K165 en MAPK p38α. El inhibidor de MAPK p38α es un compuesto de cualquiera de las Fórmulas 1085-1089, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo. En algunas realizaciones, el inhibidor de MAPK p38α es un inhibidor selectivo de MAPK p38α.

En una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MAPK p38α para el tratamiento de una enfermedad aliviada mediante la inhibición de la actividad de MAPK p38α en un paciente que lo necesite, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco del mismo; y un medio portador fisiológicamente compatible, en donde la enfermedad es cáncer o una enfermedad inflamatoria. En una realización, la enfermedad es artritis reumatoide, una enfermedad

cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) o lesión pulmonar aguda (LPA). En una realización, la enfermedad es un cáncer tal como neuroma acústico, adenocarcinoma, angiosarcoma, astrocitoma, carcinoma basocelular, carcinoma de las vías biliares, carcinoma de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, carcinoma broncogénico, cáncer de cuello de útero, cordoma, coriocarcinoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, cistadenocarcinoma, carcinoma embrionario, endoteliocarcinoma, ependimoma, carcinoma epitelial, cáncer de esófago, tumor de Ewing, fibrosarcoma, cáncer gástrico, glioblastoma multiforme, glioma, cáncer de cabeza y cuello, hemangioblastoma, hepatoma, cáncer de riñón, leiomiomasarcoma, liposarcoma, cáncer de pulmón, linfangioendoteliosarcoma, linfangiosarcoma, carcinoma medular, meduloblastoma, melanoma, meningioma, mesotelioma, mixosarcoma, cáncer nasal, neuroblastoma, oligodendroglioma, cáncer oral, sarcoma osteogénico, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, adenocarcinoma papilar, carcinoma papilar, pinealoma, cáncer de próstata, rabdomiosarcoma, cáncer de recto, carcinoma de células renales, retinoblastoma, sarcoma, carcinoma de glándulas sebáceas, seminoma, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer de estómago, carcinoma de glándulas sudoríparas, sinovioma, cáncer de testículo, carcinoma de pulmón microcítico, cáncer de garganta, cáncer de útero, tumor de Wilms, cáncer hemático, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia monoblástica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia aguda no diferenciada, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, tricoleucemia, mieloma múltiple, enfermedad de la cadena pesada, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, policitemia vera o macroglobulinemia de Waldenstrom.

En algunas realizaciones, la concentración de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, es inferior, por ejemplo, al 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,009 %, 0,008 %, 0,007 %, 0,006 %, 0,005 %, 0,004 %, 0,003 %, 0,002 %, 0,001 %, 0,0009 %, 0,0008 %, 0,0007 %, 0,0006 %, 0,0005 %, 0,0004 %, 0,0003 %, 0,0002 % o 0,0001 % p/p, p/v o v/v de la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, la concentración de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, es superior al 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 19,75 %, 19,50 %, 19,25 %, 19 %, 18,75 %, 18,50 %, 18,25 %, 18 %, 17,75 %, 17,50 %, 17,25 %, 17 %, 16,75 %, 16,50 %, 16,25 %, 16 %, 15,75 %, 15,50 %, 15,25 %, 15 %, 14,75 %, 14,50 %, 14,25 %, 14 %, 13,75 %, 13,50 %, 13,25 %, 13 %, 12,75 %, 12,50 %, 12,25 %, 12 %, 11,75 %, 11,50 %, 11,25 %, 11 %, 10,75 %, 10,50 %, 10,25 %, 10 %, 9,75 %, 9,50 %, 9,25 %, 9 %, 8,75 %, 8,50 %, 8,25 %, 8 %, 7,75 %, 7,50 %, 7,25 %, 7 %, 6,75 %, 6,50 %, 6,25 %, 6 %, 5,75 %, 5,50 %, 5,25 %, 5 %, 4,75 %, 4,50 %, 4,25 %, 4 %, 3,75 %, 3,50 %, 3,25 %, 3 %, 2,75 %, 2,50 %, 2,25 %, 2 %, 1,75 %, 1,50 %, 1,25 %, 1 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,09 %, 0,08 %, 0,07 %, 0,06 %, 0,05 %, 0,04 %, 0,03 %, 0,02 %, 0,01 %, 0,009 %, 0,008 %, 0,007 %, 0,006 %, 0,005 %, 0,004 %, 0,003 %, 0,002 %, 0,001 %, 0,0009 %, 0,0008 %, 0,0007 %, 0,0006 %, 0,0005 %, 0,0004 %, 0,0003 %, 0,0002 % o 0,0001 % p/p, p/v o v/v de la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, la concentración de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, está en el intervalo de aproximadamente el 0,0001 % a aproximadamente el 50 %, de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 40 %, de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 30 %, de aproximadamente el 0,02 % a aproximadamente el 29 %, de aproximadamente el 0,03 % a aproximadamente el 28 %, de aproximadamente el 0,04 % a aproximadamente el 27 %, de aproximadamente el 0,05 % a aproximadamente el 26 %, de aproximadamente el 0,06 % a aproximadamente el 25 %, de aproximadamente el 0,07 % a aproximadamente el 24 %, de aproximadamente el 0,08 % a aproximadamente el 23 %, de aproximadamente el 0,09 % a aproximadamente el 22 %, de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 21 %, de aproximadamente el 0,2 % a aproximadamente el 20 %, de aproximadamente el 0,3 % a aproximadamente el 19 %, de aproximadamente el 0,4 % a aproximadamente el 18 %, de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 17 %, de aproximadamente el 0,6 % a aproximadamente el 16 %, de aproximadamente el 0,7 % a aproximadamente el 15 %, de aproximadamente el 0,8 % a aproximadamente el 14 %, de aproximadamente el 0,9 % a aproximadamente el 12 % o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % p/p, p/v o v/v de la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, la concentración de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, está en el intervalo de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 5 %, de aproximadamente el 0,02 % a aproximadamente el 4,5 %, de aproximadamente el 0,03 % a aproximadamente el 4 %, de aproximadamente el 0,04 % a aproximadamente el 3,5 %, de aproximadamente el 0,05 % a aproximadamente el 3 %, de aproximadamente el 0,06 % a aproximadamente el 2,5 %, de aproximadamente el 0,07 % a aproximadamente el 2 %, de aproximadamente el 0,08 % a aproximadamente el 1,5 %, de aproximadamente el 0,09 % a aproximadamente el 1 %, de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 0,9 % en peso, p/v o v/v de la composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, la cantidad de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, es igual o inferior a 10 g, 9,5 g, 9,0 g, 8,5 g, 8,0 g, 7,5 g, 7,0 g, 6,5 g, 6,0 g, 5,5 g, 5,0 g, 4,5 g, 4,0 g, 3,5 g, 3,0 g, 2,5 g, 2,0 g, 1,5 g, 1,0 g, 0,95 g, 0,9 g, 0,85 g, 0,8 g, 0,75 g, 0,7 g, 0,65 g, 0,6 g, 0,55 g, 0,5 g, 0,45 g, 0,4 g, 0,35 g, 0,3 g, 0,25 g, 0,2 g, 0,15 g, 0,1 g, 0,09 g, 0,08 g, 0,07 g, 0,06 g, 0,05 g, 0,04 g, 0,03 g, 0,02 g, 0,01 g, 0,009 g, 0,008 g, 0,007 g, 0,006 g, 0,005 g, 0,004 g, 0,003 g, 0,002 g, 0,001 g, 0,0009 g, 0,0008 g, 0,0007 g, 0,0006 g, 0,0005 g, 0,0004 g, 0,0003 g, 0,0002 g o 0,0001 g.

En algunas realizaciones, la cantidad de cada uno de los principios activos farmacéuticos proporcionados en las composiciones farmacéuticas de la invención, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, es superior a 0,0001 g, 0,0002 g, 0,0003 g, 0,0004 g, 0,0005 g, 0,0006 g, 0,0007 g, 0,0008 g, 0,0009 g, 0,001 g, 0,0015 g, 0,002 g, 0,0025 g, 0,003 g, 0,0035 g, 0,004 g, 0,0045 g, 0,005 g, 0,0055 g, 0,006 g, 0,0065 g, 0,007 g, 0,0075 g, 0,008 g, 0,0085 g, 0,009 g, 0,0095 g, 0,01 g, 0,015 g, 0,02 g, 0,025 g, 0,03 g, 0,035 g, 0,04 g, 0,045 g, 0,05 g, 0,055 g, 0,06 g, 0,065 g, 0,07 g, 0,075 g, 0,08 g, 0,085 g, 0,09 g, 0,095 g, 0,1 g, 0,15 g, 0,2 g, 0,25 g, 0,3 g, 0,35 g, 0,4 g, 0,45 g, 0,5 g, 0,55 g, 0,6 g, 0,65 g, 0,7 g, 0,75 g, 0,8 g, 0,85 g, 0,9 g, 0,95 g, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5 g, 3 g, 3,5 g, 4 g, 4,5 g, 5 g, 5,5 g, 6 g, 6,5 g, 7 g, 7,5 g, 8 g, 8,5 g, 9 g, 9,5 g o 10 g.

Cada uno de los principios activos farmacéuticos de acuerdo con la invención es eficaz en un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, en el tratamiento de seres humanos adultos, las dosificaciones varían independientemente de 0,01 a 1000 mg, de 0,5 a 100 mg, de 1 a 50 mg por día, y de 5 a 40 mg por día, son ejemplos de dosificaciones que pueden utilizarse. La dosificación exacta dependerá de la vía de administración, de la forma en la que se administra el compuesto, del género y de la edad del sujeto que se va a tratar, del peso corporal del sujeto que se va a tratar, y de la preferencia y experiencia del médico especialista. También pueden usarse si procede las dosis clínicamente establecidas de los inhibidores de la MAPK p38α de la invención.

En una realización, la relación molar de dos principios activos farmacéuticos en las composiciones farmacéuticas está en el intervalo de 10:1 a 1:10, preferentemente de 2,5:1 a 1:2,5 y más preferentemente de aproximadamente 1:1. En una realización, la relación en peso de la relación molar de dos principios activos farmacéuticos en las composiciones farmacéuticas se selecciona del grupo que consiste en 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17, 1:18, 1:19 y 1:20. En una realización, la relación en peso de la relación molar de dos principios activos farmacéuticos en las composiciones farmacéuticas se selecciona del grupo que consiste en 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17, 1:18, 1:19 y 1:20.

En una realización, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria. En una realización, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, tales como cualesquiera de los inhibidores de MAPK p38α de la invención, son para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) o lesión pulmonar aguda (LPA).

En una realización, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, son para su uso en el tratamiento de trastornos hiperproliferativos asociados a la sobreexpresión o la regulación positiva y/o negativa de la proteína MAPK p38α. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente memoria descritas son para su uso en el tratamiento de un cáncer asociado a la sobreexpresión o regulación positiva y/o negativa de la proteína MAPK p38α, tales como cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, cáncer de piel, cáncer de colon, melanoma, melanoma maligno, cáncer de ovario, cáncer de cerebro, carcinoma primario de cerebro, cáncer de cabeza-cuello, glioma, glioblastoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de cabeza o cuello, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, tumor de Wilms, carcinoma de cuello de útero, carcinoma de testículo, carcinoma de vejiga, carcinoma pancreático, carcinoma de estómago, carcinoma de colon, carcinoma de próstata, carcinoma genitourinario, carcinoma de tiroides, carcinoma de esófago, mieloma, mieloma múltiple, carcinoma suprarrenal, carcinoma de células renales, carcinoma de endometrio, carcinoma de la corteza suprarrenal, insulinoma pancreático maligno, carcinoma carcinoide maligno, coriocarcinoma, micosis fungoide, hipercalcemia maligna, hiperplasia de cuello de útero, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, tricoleucemia, neuroblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de Kaposi, policitemia vera, trombocitosis idiopática, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma osteogénico, macroglobulinemia primaria o retinoblastoma.

A continuación se describen composiciones farmacéuticas no limitantes y métodos para preparar las mismas.

Composiciones farmacéuticas para la administración oral

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica para la administración oral que contiene

el principio activo farmacéutico o combinación de principios activos farmacéuticos, tales como los inhibidores de MAPK p38 α descritos en el presente documento, y un excipiente farmacéutico adecuado para la administración oral.

5 En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica sólida para la administración oral que contiene: (i) una cantidad eficaz de un principio activo farmacéutico o combinación de principios activos farmacéuticos, y (ii) un excipiente farmacéutico adecuado para la administración oral. En realizaciones seleccionadas, la composición contiene además (iii) una cantidad eficaz de un tercer principio activo farmacéutico y opcionalmente (iv) una cantidad eficaz de un cuarto principio activo farmacéutico.

10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica líquida adecuada para consumo oral. Las composiciones farmacéuticas de la invención adecuadas para la administración oral pueden presentarse como formas farmacéuticas discretas, tales como cápsulas, sobres o comprimidos, o líquidos o pulverizaciones de aerosol, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un principio activo como un polvo o en gránulos, una solución, o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, una emulsión de aceite en agua, una emulsión líquida de agua en aceite, polvos para reconstituir, polvos para consumo oral, frascos (que incluyen polvos o líquidos en un frasco), películas que se disuelven por vía oral, pastillas para chupar, pastas, tubos, gomas y envases. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos de farmacia, aunque todos los métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo (o principios activos) con el portador, que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando uniforme e íntimamente el principio activo (o principios activos) con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y después, en caso necesario, dando forma al producto en la presentación deseada. Por ejemplo, un comprimido puede prepararse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos prensados pueden prepararse prensando en una máquina adecuada el principio activo en una forma fluida, tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un excipiente tal como, pero sin limitación, un aglutinante, un lubricante, un diluyente inerte y/o un agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos creados por moldeo pueden prepararse moldeando, en una moldeadora adecuada, una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

30 La invención abarca además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, en las técnicas farmacéuticas se puede añadir agua (por ejemplo, al 5 %) como un medio de simulación del almacenamiento a largo plazo para determinar características tales como la vida útil o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención pueden prepararse usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o baja humedad. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención que contienen lactosa pueden hacerse anhidras si se produce un contacto sustancial con humedad y/o humidificación durante la fabricación, el envasado y/o el almacenamiento. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. En consecuencia, las composiciones anhidras se pueden envasar usando materiales que se sabe que impiden la exposición al agua de manera que se puedan incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de envasado adecuado se incluyen, pero sin limitación, láminas herméticamente selladas, plástico o similar, recipientes de dosis unitaria, blísteres y tiras.

45 Cada uno de los principios activos farmacéuticos puede combinarse en una mezcla íntima con un portador farmacéutico de acuerdo con las técnicas convencionales de composición farmacéutica. El portador puede adoptar una amplia diversidad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. En la preparación de las composiciones para una forma farmacéutica oral, como portadores pueden emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes, y similares en el caso de preparaciones líquidas orales (tales como suspensiones, soluciones y elixires) o aerosoles; o portadores tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y en el caso de preparaciones sólidas orales pueden usarse agentes disgregantes, en algunas realizaciones sin emplear el uso de lactosa. Por ejemplo, como portadores adecuados se incluyen polvos, cápsulas y comprimidos, con las preparaciones orales sólidas. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas acuosas o no acuosas estándar.

55 Como aglutinantes adecuados para su uso en las composiciones y formas farmacéuticas se incluyen, pero sin limitación, almidón de maíz, almidón de patata u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa microcristalina y mezclas de los mismos.

60 Los ejemplos de cargas adecuadas para su uso en las composiciones y formas farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, talco, carbonato cálcico (por ejemplo, gránulos o polvos), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado y mezclas de estos.

65 Los disgregantes se pueden usar en las composiciones de la invención para proporcionar comprimidos que se

- disgregan cuando se exponen a un entorno acuoso. Demasiado disgregante puede producir comprimidos que se disgreguen en el frasco. Demasiado poco puede ser insuficiente para que se produzca la disgregación, alterando de este modo la velocidad y el grado de liberación de los principios activos de la forma farmacéutica. Por lo tanto, puede utilizarse una cantidad suficiente de disgregante que no sea demasiado pequeña ni demasiado grande como para
- 5 alterar perjudicialmente la liberación del principio activo (o principios activos) para formar las formas farmacéuticas de los compuestos divulgados en el presente documento. La cantidad de disgregante utilizada puede variar en función del tipo de formulación y el modo de administración, y puede ser fácilmente discernible para los expertos en la materia. Aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de disgregante, o aproximadamente 1 a
- 10 aproximadamente 5 por ciento en peso de disgregante, puede usarse en la composición farmacéutica. Los disgregantes que pueden utilizarse para formar composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas de la invención incluyen, pero sin limitación, agar-agar, ácido alginico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, crospovidona, polacrilina potásica, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas o mezclas de los mismos.
- 15 Los lubricantes que se pueden usar para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero sin limitación, estearato de calcio, estearato de magnesio, estearilfumarato de sodio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de cinc, oleato de etilo, laurato de etilo,
- 20 agar o mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice syloid, un aerosol coagulado de sílice sintética, celulosa microcristalina silicificada, o mezclas de estos. Opcionalmente, puede añadirse un lubricante en una cantidad de menos de aproximadamente el 0,5 % o de menos de aproximadamente el 1 % (en peso) de la composición farmacéutica.
- 25 Cuando se desean suspensiones y/o elixires acuosos para la administración oral, el/los principio(s) activo(s) puede(n) combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o tintes y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones de los mismos.
- 30 Los comprimidos pueden o no recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la absorción en el tubo gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período de tiempo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín,
- 35 o como cápsulas de gelatina blanda, en donde el principio activo se mezcla con agua o con un medio oleaginoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.
- Los tensioactivos que pueden usarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero sin limitación, tensioactivos hidrófilos, tensioactivos lipófilos, y sus mezclas. Es decir, se puede
- 40 emplear una mezcla de tensioactivos hidrófilos, se puede emplear una mezcla de tensioactivos lipófilos, o se puede emplear una mezcla de al menos un tensioactivo hidrófilo y al menos un tensioactivo lipófilo.
- Un tensioactivo hidrófilo adecuado puede tener generalmente un valor de HLB de al menos 10, mientras que los tensioactivos lipófilos adecuados pueden tener generalmente un valor de HLB de, o de menos de, aproximadamente
- 45 10. Un parámetro empírico utilizado para caracterizar la hidrofilia e hidrofobia relativas de los compuestos anfífilos no iónicos es el equilibrio hidrófilo-lipófilo (valor "HLB", por las siglas del inglés *hydrophilic-lipophilic balance*). Los tensioactivos con valores más bajos de HLB son más lipófilos o hidrófobos y tienen una mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores más altos de HLB son más hidrófilos y tienen una mayor solubilidad en soluciones acuosas. Generalmente se considera que los tensioactivos hidrófilos son los compuestos que tienen un
- 50 valor de HLB superior a aproximadamente 10, así como los compuestos aniónicos, catiónicos o zwitteriónicos para los cuales la escala de HLB no es generalmente aplicable. De manera similar, los tensioactivos lipófilos (es decir, hidrófobos) son compuestos que tienen un valor de HLB igual o inferior de aproximadamente 10. Sin embargo, el valor de HLB de un tensioactivo es simplemente una guía aproximada utilizada generalmente para permitir la formulación de productos industriales, emulsiones farmacéuticas y cosméticas.
- 55 Los tensioactivos hidrófilos pueden ser iónicos o no iónicos. Los tensioactivos iónicos adecuados incluyen, pero sin limitación, sales de alquilamonio; sales de ácido fusídico; derivados de ácidos grasos de aminoácidos, oligopéptidos, y polipéptidos; derivados de glicéridos de aminoácidos, oligopéptidos, y polipéptidos; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitinas y lisolecitinas hidrogenadas; fosfolípidos y derivados de los mismos; lisofosfolípidos y derivados de los
- 60 mismos; sales de éster de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; lactilatos de acilo; ésteres de ácido tartárico mono- y diacetilado de mono y diglicéridos; mono- y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.
- Dentro del grupo mencionado anteriormente, los tensioactivos iónicos incluyen, a modo de ejemplo: lecitinas, lisolecitina, fosfolípidos, lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de éster de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono- y diacetilado
- 65

de mono y diglicéridos; mono- y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono- y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos iónicos pueden ser las formas ionizadas de lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG- fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, ésteres lactílicos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato, lactilato de estearoil, monoglicéridos succinilados, ésteres de ácido tartárico mono/diacetilados de mono/diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono/diglicéridos, colilsarcosina, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, sulfato de laurilo, sulfato de teracecilo, docusato, lauroil carnitinas, palmitoil carnitinas, miristoil carnitinas y sales y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos hidrófilos no iónicos pueden incluir, pero sin limitación, alquilglucósidos; alquilmaltosidos; alquiltioglicósidos; lauril macroglicéridos; polioxialquilenos alquil éteres tales como polietilenglicol alquil éteres; polioxialquilenos alquilfenoles tales como polietilenglicol alquilfenoles; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilenos alquil fenol tales como monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; ésteres de ácidos grasos de poliglicerol; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilenos sorbitán tales como ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán; productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos, y esteroides; polioxietileno esteroides, derivados y análogos de los mismos; vitaminas polioxietiladas y derivados de las mismas; copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno; y mezclas de los mismos; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán y productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en triglicéridos, aceites vegetales, y aceites vegetales hidrogenados. El poliol puede ser glicerol, etilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, propilenglicol, pentaeritritol o un sacárido.

Otros tensioactivos hidrófilos no iónicos incluyen, sin limitación, PEG-10 laurato, PEG-12 laurato, PEG-20 laurato, PEG-32 laurato, PEG-32 dilaurato, PEG-12 oleato, PEG-15 oleato, PEG-20 oleato, PEG-20 dioleato, PEG-32 oleato, PEG-200 oleato, PEG-400 oleato, PEG-15 estearato, PEG-32 diestearato, PEG-40 estearato, PEG-100 estearato, PEG-20 dilaurato, PEG-25 trioleato de glicerilo, PEG-32 dioleato, PEG-20 laurato de glicerilo, PEG-30 laurato de glicerilo, PEG-20 estearato de glicerilo, PEG-20 oleato de glicerilo, PEG-30 oleato de glicerilo, PEG-30 laurato de glicerilo, PEG-40 laurato de glicerilo, PEG-40 aceite de almendra de palma, PEG-50 aceite de ricino hidrogenado, PEG-40 aceite de ricino, PEG-35 aceite de ricino, PEG-60 aceite de ricino, PEG-40 aceite de ricino hidrogenado, PEG-60 aceite de ricino hidrogenado, PEG-60 aceite de maíz, PEG-6 caprato/caprilato glicéridos, PEG-8 caprato/caprilato glicéridos, laurato de poliglicerilo-10, PEG-30 colesterol, PEG-25 fitoesterol, PEG-30 esteroil de soja, PEG-20 tioleato, PEG-40 oleato de sorbitán, PEG-80 laurato de sorbitán, polisorbato 20, polisorbato 80, POE-9 lauril éter, POE-23 lauril éter, POE-10 oleil éter, POE-20 oleil éter, POE-20 éter estearílico, PEG-100 succinato de tocoferilo, PEG-24 colesterol, oleato de poliglicerilo-10, Tween 40, Tween 60, monoestearato de sacarosa, monolaurato de sacarosa, monopalmitato de sacarosa, serie PEG 10-100 nonilfenol, serie PEG 15-100 octilfenol, y poloxámeros.

Los tensioactivos lipófilos adecuados incluyen, a modo de ejemplo solamente: alcoholes grasos; ésteres de ácidos grasos de glicerol; ésteres de ácidos grasos de glicerol acetilado; ésteres de ácidos grasos de alcohol inferior; ésteres de ácidos grasos de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos de sorbitán; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán; esteroides y derivados de esteroil; esteroides polioxietilados y derivados de esteroil; poli(ésteres alquílicos de etilenglicol); ésteres de azúcar; éteres de azúcar; derivados de ácido láctico de mono- y diglicéridos; productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; vitaminas/derivados vitamínicos solubles en aceite; y mezclas de los mismos. Dentro de este grupo, los tensioactivos lipófilos preferidos incluyen ésteres de ácidos grasos de glicerol, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol, y mezclas de los mismos, o son productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro del grupo que consiste en aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados y triglicéridos.

En una realización, la composición puede incluir un solubilizante para asegurar una buena solubilización y/o disolución del compuesto de la presente invención y para minimizar la precipitación del compuesto de la presente invención. Esto puede ser especialmente importante para composiciones para uso no oral, por ejemplo, composiciones inyectables. También se puede añadir un solubilizante para aumentar la solubilidad del fármaco hidrófilo y/o de otros componentes, tales como tensioactivos, o para conservar la composición como una solución o dispersión estable u homogénea.

Los ejemplos de solubilizantes adecuados incluyen, pero sin limitación, los siguientes: alcoholes y polioles, tales como etanol, isopropanol, butanol, alcohol bencílico, etilenglicol, propilenglicol, butanodiolos e isómeros de los mismos, glicerol, pentaeritritol, sorbitol, manitol, transcitol, dimetil isosorbida, polietilenglicol, polipropilenglicol, alcohol polivinílico, hidroxipropilmetilcelulosa y otros derivados de celulosa, ciclodextrinas y derivados de ciclodextrina; éteres de polietilenglicoles que tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 200 a aproximadamente 6000, tal como éter de PEG de alcohol tetrahidrofurfurílico o metoxi PEG; amidas y otros compuestos que contienen nitrógeno tales como 2-piperidona, 2-piperidona, ϵ -caprolactama, N-alquilpiperidona, N-hidroxialquilpiperidona, N-alquilpiperidona, N-alquilcaprolactama, dimetilacetamida y polivinilpiperidona; ésteres tales como propionato de etilo,

citrato de tributilo, trietilcitrato de acetilo, tributilcitrato de acetilo, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, butirato de etilo, triacetina, monoacetato de propilenglicol, diacetato de propilenglicol, ϵ -caprolactona e isómeros de la misma, δ -valerolactona e isómeros de la misma, β -butirolactona e isómeros de la misma; y otros solubilizantes conocidos en la técnica, tales como dimetil acetamida, dimetil isosorbida, N-metil pirrolidonas, monooctanoína, dietilenglicol monoetil éter, y agua.

También pueden usarse mezclas de solubilizantes. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, triacetina, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, N-hidroxietilpirrolidona, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilciclodextrinas, etanol, polietilenglicol 200-100, glicofulol, transcultol, propilenglicol y dimetil isosorbida. Los solubilizantes particularmente preferidos incluyen sorbitol, glicerol, triacetina, alcohol etílico, PEG-400, glicofulol y propilenglicol.

La cantidad de solubilizante que se puede incluir no está particularmente limitada. La cantidad de un solubilizante determinado puede limitarse a una cantidad bioaceptable, que puede determinar fácilmente un experto en la materia. En algunas circunstancias, puede ser ventajoso incluir cantidades de solubilizantes muy superiores a las cantidades bioaceptables, por ejemplo, para maximizar la concentración del fármaco, eliminando el exceso de solubilizante antes de proporcionar la composición a un paciente usando técnicas convencionales, tales como destilación o evaporación. Por lo tanto, si están presentes, el solubilizante puede estar en una relación en peso del 10 %, 25 %, 50 %, 100 % o hasta aproximadamente el 200 % en peso, basándose en el peso combinado del fármaco y de otros excipientes. Si se desea, también pueden usarse cantidades muy pequeñas de solubilizante, tales como el 5 %, 2 %, 1 % o incluso menos. Normalmente, el solubilizante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 100 %, más normalmente, de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 25 % en peso.

La composición puede incluir además uno o más aditivos y excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichos aditivos y excipientes incluyen, sin limitación, separadores, agentes antiespumantes, agentes tamponantes, polímeros, antioxidantes, conservantes, agentes quelantes, viscomoduladores, tonificantes, aromatizantes, colorantes, odorizantes, opacificantes, agentes de suspensión, aglutinantes, cargas, plastificantes, lubricantes, y mezclas de los mismos.

Asimismo, se puede incorporar un ácido o una base a la composición para facilitar el procesamiento, para potenciar la estabilidad, o por otras razones. Los ejemplos de bases farmacéuticamente aceptables incluyen aminoácidos, ésteres de aminoácidos, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidrogenocarbonato de sodio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, hidróxido de magnesio, silicato de aluminio y magnesio, silicato de aluminio sintético, hidrocalcita sintética, hidróxido de aluminio y magnesio, diisopropiletilamina, etanolamina, etilendiamina, trietanolamina, trietilamina, triisopropanolamina, trimetilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) y similares. También son adecuadas bases que son sales de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido algínico, ácido alcanosulfónico, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinosulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico y similares. También pueden usarse sales de ácidos polipróticos, tales como fosfato de sodio, hidrogenofosfato disódico y dihidrogenofosfato sódico. Cuando la base es una sal, el catión puede ser cualquier catión conveniente y farmacéuticamente aceptable, tal como amonio, metales alcalinos y metales alcalinotérreos. Como ejemplos se puede incluir, pero sin limitación, sodio, potasio, litio, magnesio, calcio y amonio.

Los ácidos adecuados son ácidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico y similares. Los ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido algínico, ácidos alcanosulfónicos, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidroquinosulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico y ácido úrico.

Composiciones farmacéuticas para inyección

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica inyectable que contiene un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, y un excipiente farmacéutico adecuado para inyección.

Las formas en las que las composiciones de la presente invención pueden incorporarse para la administración por inyección incluyen suspensiones acuosas o de aceite o emulsiones, con aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón o aceite de cacahuete, así como elixires, manitol, dextrosa, o una solución acuosa estéril, y vehículos farmacéuticos similares.

También se usan convencionalmente soluciones acuosas en solución salina para inyección. También pueden emplearse etanol, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido (y mezclas adecuadas de los mismos), derivados de ciclodextrina y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, usando un recubrimiento, tal como lecitina, para conservar el tamaño de partícula necesario en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y timerosal.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos en las cantidades requeridas en el disolvente apropiado junto con otros ingredientes diversos, como se ha enumerado anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, se preparan dispersiones incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, determinados métodos de preparación convenientes son las técnicas de secado al vacío y liofilización, que producen un polvo del principio activo más cualquier principio adicional deseado, a partir de una solución del mismo previamente esterilizada por filtración.

Composiciones farmacéuticas para suministro tópico

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica para suministro transdérmico que contiene un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos, los compuestos de, es decir, cualquiera de las Fórmulas 1085-1089, y un excipiente farmacéutico adecuado para el suministro transdérmico.

Las composiciones de la presente invención pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas o líquidas adecuadas para la administración local o tópica, tales como geles, jaleas solubles en agua, cremas, lociones, suspensiones, espumas, polvos, suspensiones, pomadas, soluciones, aceites, pastas, supositorios, pulverizaciones, emulsiones, soluciones salinas, soluciones a base de dimetilsulfóxido (DMSO). En general, los portadores con densidades más altas son capaces de proporcionar una zona con una exposición prolongada a los principios activos. En cambio, una formulación en solución puede proporcionar una exposición más inmediata del principio activo en la zona elegida.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender portadores o excipientes adecuados en fase sólida o de gel, que son compuestos que permiten una penetración aumentada de, o ayudan en el suministro de, moléculas terapéuticas a través de la barrera de permeabilidad del estrato córneo de la piel. Los expertos en la técnica de la formulación tópica conocen muchas de las moléculas potenciadoras de la penetración existentes. Los ejemplos de dichos portadores y excipientes incluyen, pero sin limitación, humectantes (por ejemplo, urea), glicoles (por ejemplo, propilenglicol), alcoholes (por ejemplo, etanol), ácidos grasos (por ejemplo, ácido oleico), tensioactivos (por ejemplo, miristato de isopropilo y lauril sulfato de sodio), pirrolidonas, monolaurato de glicerol, sulfóxidos, terpenos (por ejemplo, mentol), aminas, amidas, alcanos, alcoholes, agua, carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros, tales como polietilenglicoles.

Otra formulación de ejemplo para su uso en la presente invención emplea dispositivos de suministro transdérmico ("parches"). Dichos parches transdérmicos pueden usarse para proporcionar una infusión continua o discontinua de un principio activo farmacéutico o de una combinación de principios activos farmacéuticos en cantidades controladas, con o sin otro principio farmacéutico activo.

En la materia se conocen bien la construcción y el uso de parches transdérmicos para el suministro de agentes farmacéuticos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. N.º 5.023.252, 4.992.445; y 5.001.139. Dichos parches pueden construirse para el suministro continuo, pulsátil o a demanda de agentes farmacéuticos.

Composiciones farmacéuticas para inhalación

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se han descrito anteriormente y los compuestos de las Fórmulas 1085-1089. Preferentemente, para obtener un efecto local o sistémico, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal. Preferentemente, las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables pueden nebulizarse usando de gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden inhalarse directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización puede estar unido a una mascarilla facial o a un respirador con presión positiva intermitente. Las composiciones en solución, suspensión, o polvo pueden administrarse, preferentemente, por vía oral o nasal, desde dispositivos que suministran la formulación de una manera apropiada. Para proporcionar el suministro inhalado de las composiciones, también pueden usarse inhaladores de polvo seco.

Otras composiciones farmacéuticas

También pueden prepararse composiciones farmacéuticas de los inhibidores de MAPK p38 α descritos en el presente documento, es decir, los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, a partir de composiciones descritos en el presente documento y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración sublingual, bucal, rectal, intraósea, intraocular, intranasal, epidural o intraespinal. En la técnica se conocen bien las preparaciones para tales composiciones farmacéuticas. Véase, por ejemplo, Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G, eds., *Handbook of Clinical Drug Data*, Décima edición, McGraw-Hill, 2002; y Pratt y Taylor, eds., *Principles of Drug Action*, Tercera edición, Churchill Livingstone, N.Y., 1990.

La administración de un principio activo farmacéutico o de una combinación de principios activos farmacéuticos o de una composición farmacéutica de los mismos puede efectuarse por cualquier método que permita el suministro de los compuestos en el sitio de acción. Estos métodos incluyen vías orales, vías intraduodenales, inyección parenteral (incluida la intravenosa, intraarterial, subcutánea, intramuscular, intravascular, intraperitoneal o infusión), la administración tópica (por ejemplo, aplicación transdérmica), rectal, mediante suministro local por catéter o *stent*, o a través de inhalación. El principio activo o la combinación de principios activos también pueden administrarse por vía intraadiposa o intratecal.

Las formas de administración parenteral de ejemplo incluyen soluciones o suspensiones de un compuesto activo en soluciones acuosas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas de propilenglicol o dextrosa. Dichas formas farmacéuticas pueden tamponarse adecuadamente, si se desea.

Kits

En el presente documento también se divulgan kits. Los kits incluyen un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos, solos o en combinación en envases adecuados, y material escrito que puede incluir instrucciones de uso, análisis de estudios clínicos y un listado de efectos secundarios. Dichos kits también pueden incluir información, tal como referencias de bibliografía científica, materiales de prospecto del envase, resultados de ensayos clínicos y/o resúmenes de estos y similares, que indiquen o establezcan las actividades y/o las ventajas de la composición, y/o que describan la dosificación, administración, efectos secundarios, interacciones farmacológicas u otra información útil para el personal sanitario. Dicha información puede basarse en los resultados de diversos estudios, por ejemplo, estudios que utilizan animales de experimentación que implican modelos *in vivo* y estudios basados en ensayos clínicos en seres humanos. El kit puede contener además otro principio farmacéutico activo. En realizaciones seleccionadas, un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos se suministran como composiciones separadas en recipientes separados dentro del kit. En realizaciones seleccionadas, un principio activo farmacéutico o una combinación de principios activos farmacéuticos se proporcionan como composición única dentro de un recipiente del kit. Los envases adecuados y los artículos adicionales para su uso (por ejemplo, una taza medidora para preparaciones líquidas, papel de aluminio para minimizar la exposición al aire y similares) se conocen en la técnica y pueden incluirse en el kit. Los kits descritos en el presente documento se pueden proporcionar, comercializar y/o promocionar a profesionales sanitarios, incluidos médicos, enfermeros, farmacéuticos, funcionarios del formulario y similares. Los kits también pueden, en realizaciones seleccionadas, comercializarse directamente al consumidor.

Se proporciona un kit que comprende una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, o una combinación de ingredientes farmacéuticos activos o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco de los mismos. Estas composiciones son normalmente composiciones farmacéuticas. El kit es para la coadministración del principio activo farmacéutico o la combinación de principios activos farmacéuticos, ya sea de manera simultánea o por separado.

Se proporciona un kit que comprende (1) una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, o una combinación de ingredientes farmacéuticos activos o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, cocrystal o profármaco de los mismos, y (2) un ensayo de diagnóstico para determinar si el cáncer de un paciente es un subtipo particular de un cáncer. Puede utilizarse cualquiera de los métodos de diagnóstico anteriores en el kit.

Los kits descritos anteriormente son preferentemente para su uso en el tratamiento de las enfermedades y afecciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, los kits son para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, los kits son para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) o lesión pulmonar aguda (LPA). En una realización particular, los kits son para su uso en el tratamiento de trastornos hiperproliferativos, tales como cáncer.

En una realización particular, los kits descritos en el presente documento son para su uso en el tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, los kits descritos en el presente documento son para su uso en el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, cáncer de piel, cáncer de colon, melanoma, melanoma maligno, cáncer de ovario, cáncer de cerebro, carcinoma primario de cerebro, cáncer de cabeza-cuello, glioma, glioblastoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón no

microcítico, carcinoma de cabeza o cuello, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, tumor de Wilms, carcinoma de cuello de útero, carcinoma de testículo, carcinoma de vejiga, carcinoma pancreático, carcinoma de estómago, carcinoma de colon, carcinoma de próstata, carcinoma genitourinario, carcinoma de tiroides, carcinoma de esófago, mieloma, mieloma múltiple, carcinoma suprarrenal, carcinoma de células renales, carcinoma de endometrio, carcinoma de la corteza suprarrenal, insulinoma pancreático maligno, carcinoma carcinoide maligno, coriocarcinoma, micosis fungoide, hipercalcemia maligna, hiperplasia de cuello de útero, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, tricoleucemia, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma de Kaposi, policitemia vera, trombocitosis idiopática, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma osteogénico, macroglobulinemia primaria y retinoblastoma. En realizaciones particulares, los kits descritos en el presente documento son para su uso en el tratamiento del melanoma maligno.

Dosificaciones y pautas posológicas

Las cantidades de las composiciones farmacéuticas administradas usando los métodos del presente documento, es decir, las dosificaciones de cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, dependerá del ser humano o mamífero que se esté tratando, la gravedad del trastorno o afección, la velocidad de administración, la disposición de los principios activos farmacéuticos y la discreción del médico prescriptor. Sin embargo, una dosificación eficaz está en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 35 mg/kg/día, en dosis individuales o divididas. Para un ser humano de 70 kg, esto equivaldría a aproximadamente 0,05 a 7 g/día, tal como aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,5 g/día. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado anteriormente pueden ser más que adecuados, mientras que, en otros casos, pueden emplearse dosis aún mayores sin provocar ningún efecto secundario perjudicial, por ejemplo, dividiendo dichas dosis mayores en varias dosis pequeñas para la administración a lo largo del día. La dosificación de las composiciones farmacéuticas y los principios activos farmacéuticos puede proporcionarse en unidades de mg/kg de masa corporal o en mg/m² de superficie corporal.

En algunas realizaciones, la invención incluye compuestos para su uso en métodos de tratamiento de un cáncer en un sujeto humano que padece cáncer en el que las células cancerosas sobreexpresan MAPK p38 α , comprendiendo el método las etapas de administrar una dosis terapéuticamente eficaz de un principio activo farmacéutico que es cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, al sujeto humano.

En algunas realizaciones, la invención incluye compuestos para su uso en métodos de tratamiento de un cáncer en un sujeto humano que padece cáncer en el que las células cancerosas sobreexpresan MAPK p38 α , el método comprende las etapas de administrar una dosis terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, al sujeto humano para inhibir o disminuir la actividad de la proteína MAPK p38 α .

En algunas realizaciones, se administra una composición farmacéutica o principio activo farmacéutico en una dosis única. Dicha administración puede ser por inyección, por ejemplo, inyección intravenosa, para introducir los principios activos farmacéuticos rápidamente. Sin embargo, pueden usarse otras vías, incluyendo la vía oral preferida, según sea apropiado. También puede usarse una dosis única de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección aguda.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica o un principio activo farmacéutico se administra en dosis múltiples. En una realización, una composición farmacéutica se administra en múltiples dosis. La dosificación puede ser una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, o más de seis veces al día. La dosificación puede ser una vez al mes, una vez cada dos semanas, una vez a la semana, o una vez cada dos días. En otras realizaciones, una composición farmacéutica se administra de aproximadamente una vez al día a aproximadamente 6 veces al día. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica se administra una vez al día, mientras que, en otras realizaciones, una composición farmacéutica se administra dos veces al día, y en otras realizaciones, una composición farmacéutica se administra tres veces al día.

La administración de los principios farmacéuticos activos puede continuar tanto tiempo como sea necesario. En realizaciones seleccionadas, una composición farmacéutica se administra durante más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 o 28 días. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica se administra durante menos de 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 día. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica se administra de forma crónica y continuada, por ejemplo, para el tratamiento de efectos crónicos. En algunas realizaciones, la administración de una composición farmacéutica continúa durante menos de aproximadamente 7 días. En otra realización más, la administración continúa durante más de aproximadamente 6, 10, 14, 28 días, dos meses, seis meses, o un año. En algunos casos, se logra una dosificación continua y se mantiene durante tanto tiempo como sea necesario.

En algunas realizaciones, una dosis eficaz de un principio activo farmacéutico divulgado en el presente documento, es decir, cualquiera de los compuestos de las Fórmulas 1085-1089, está en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 10 mg a

aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 120 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 90 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 80 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 70 mg, de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 45 mg a aproximadamente 55 mg, de aproximadamente 48 mg a aproximadamente 52 mg, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 140 mg, de aproximadamente 70 mg a aproximadamente 130 mg, de aproximadamente 80 mg a aproximadamente 120 mg, de aproximadamente 90 mg a aproximadamente 110 mg, de aproximadamente 95 mg a aproximadamente 105 mg, de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 160 mg a aproximadamente 240 mg, de aproximadamente 170 mg a aproximadamente 230 mg, de aproximadamente 180 mg a aproximadamente 220 mg, de aproximadamente 190 mg a aproximadamente 210 mg, de aproximadamente 195 mg a aproximadamente 205 mg o de aproximadamente 198 mg a aproximadamente 202 mg. En algunas realizaciones, una dosis eficaz de un principio activo farmacéutico divulgado en el presente documento es inferior a aproximadamente 25 mg, inferior a aproximadamente 50 mg, inferior a aproximadamente 75 mg, inferior a aproximadamente 100 mg, inferior a aproximadamente 125 mg, inferior a aproximadamente 150 mg, inferior a aproximadamente 175 mg, inferior a aproximadamente 200 mg, inferior a aproximadamente 225 mg o inferior a aproximadamente 250 mg. En algunas realizaciones, una dosis eficaz de un principio activo farmacéutico divulgado en el presente documento es superior a aproximadamente 25 mg, superior a aproximadamente 50 mg, superior a aproximadamente 75 mg, superior a aproximadamente 100 mg, superior a aproximadamente 125 mg, superior a aproximadamente 150 mg, superior a aproximadamente 175 mg, superior a aproximadamente 200 mg, superior a aproximadamente 225 mg o superior a aproximadamente 250 mg.

En algunas realizaciones, una dosis eficaz de un principio activo farmacéutico divulgado en el presente documento, es decir, cualquiera de los compuestos de cualquiera de las Fórmulas 1085-1089, está en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, o de aproximadamente 0,1 a 100 mg/kg, o de aproximadamente 1 a 50 mg/kg.

En algunas realizaciones, un principio activo farmacéutico se administra a una dosis de 10 a 200 mg dos veces al día, incluyendo 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o 200 mg dos veces al día. En algunas realizaciones, un principio activo farmacéutico se administra a una dosis de 10 a 500 mg dos veces al día, incluyendo 1, 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 o 500 mg dos veces al día.

En algunos casos, niveles de dosificación por debajo del límite inferior de los intervalos mencionados anteriormente, pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar ningún efecto secundario dañino, por ejemplo, dividiendo dichas dosis mayores en varias dosis pequeñas para la administración a lo largo del día. Por supuesto, como apreciarán los expertos en la materia, la dosis realmente administrada dependerá de la afección tratada, la edad, la salud y el peso del receptor, el tipo de tratamiento concomitante, en su caso, y la frecuencia del tratamiento. Por otro lado, un experto en la materia puede determinar la cantidad de dosificación eficaz basándose en ensayos empíricos rutinarios de actividad para medir la bioactividad del compuesto o compuestos en un bioensayo, y establecer de este modo la dosis apropiada que debe administrarse.

Una cantidad eficaz de la combinación del principio activo farmacéutico puede administrarse en dosis únicas o múltiples mediante cualquiera de los modos de administración aceptados de agentes que tienen utilidades similares, incluyendo la vías rectal, bucal, intranasal y transdérmica, mediante inyección intraarterial, por vía intravenosa, por vía intraperitoneal, por vía parenteral, por vía intramuscular, por vía subcutánea, por vía oral, por vía tópica o como inhalante.

En algunas realizaciones, las composiciones descritas en el presente documento incluyen además formas farmacéuticas terapéuticas de liberación controlada, de liberación sostenida o de liberación prolongada para la administración de los compuestos descritos en el presente documento, lo que implica la incorporación de los compuestos a un sistema de suministro adecuado en la formación de determinadas composiciones. Esta forma farmacéutica controla la liberación del compuesto o compuestos de manera que puede mantenerse una concentración eficaz del compuesto o compuestos en el torrente sanguíneo durante un período de tiempo prolongado, mientras que la concentración en la sangre permanece relativamente constante, para mejorar los resultados terapéuticos y/o minimizar los efectos secundarios. Adicionalmente, un sistema de liberación controlada proporcionaría fluctuaciones mínimas de máximo a mínimo en los niveles en plasma sanguíneo del compuesto.

Los siguientes ejemplos describen la invención en más detalle. Estos ejemplos se proporcionan únicamente a título ilustrativo y en ningún caso deben considerarse limitantes de la invención.

Ejemplos

Materiales y métodos

Productos químicos, proteínas recombinantes y anticuerpos: Los anticuerpos de ratón anti-p38 α humana y de conejo anti-fosfo-MK2 (T222) y anti-fosfo-Stat-1 (S727) se adquirieron en Cell Signaling Technology (Danvers, MA). Las secuencias codificantes de la variante 2 de p38 α humana y de p38 β (con marcador HA N-terminal) se amplificaron

mediante PCR y se clonaron en pRSetA (Thermo Fisher). Las mutaciones se introdujeron en p38 α usando Quikchange (Stratagene) y se confirmaron mediante secuenciación bidireccional. Los plásmidos se transformaron en BL21 de *E. coli* y las proteínas se purificaron usando columnas de cobalto (TALON™; Clontech Laboratories; Mountain View, CA) y se confirmaron mediante SDS-PAGE y transferencia Western. Los compuestos identificados en el cribado por CADD se adquirieron en Maybridge Chemical Co. (Bélgica).

Identificación por CADD de compuestos líderes (FIG. 1D): Basándose en la estructura cristalina de rayos X de p38 α /MAPK14 de ratón (ID de PDB: 1P38), se usó un proceso de CADD iterativo por etapas para cribar una base de datos informática de compuestos de moléculas pequeñas disponibles en la Colección de Cribado Químico de Maybridge en busca del potencial para unirse en un bolsillo próximo al sitio de unión a sustrato ED (FIG. 1A y FIG. 1B). La preparación informática de la conformación de p38 α se realizó usando CHARMM36 y el campo de fuerza general (CGenFF) con el programa Nanoscale Molecular Dynamics (NAMD), para identificar posibles bolsillos locales de unión a ligando. Las estructuras proteínicas se sometieron a agrupación para identificar 20 conformaciones proteínicas representativas que tuvieran en cuenta la flexibilidad de la proteína. El cribado se realizó en las siguientes fases: (1) se identificaron posibles sitios de unión inhibidores; (2) los compuestos se clasificaron basándose en sus energías de interacción de van der Waals (VDW) y electrostática con los bolsillos de unión a proteína usando el programa DOCK con normalización de puntuación basada en el tamaño; (3) los 50.000 mejores compuestos se sometieron a un segundo cribado informático con relajación adicional de los ligandos durante la unión simulada y se seleccionaron los 1.000 mejores compuestos basándose en la energía de interacción total, incluyendo la normalización de la puntuación basada en el tamaño del ligando; (4) se realizó un análisis de grupos basándose en distintivos químicos de los compuestos con mayor puntuación usando el programa MOE (Chemical Computing Group) para identificar compuestos químicamente diversos y se seleccionó la lista final de compuestos potenciales que interactúan con p38 α basándose en una métrica de biodisponibilidad escalar, 4DBA, que da cuenta de los descriptores fisicoquímicos de la Regla de los Cinco de Lipinski.

La variante 1 de p38 α /MAPK14 no fosforilada de ratón difiere de su variante 2 humana en sólo dos aminoácidos, H48L y A263T y de la variante 2 de ratón y la variante 1 humana en sólo 14 aminoácidos entre los restos 230 y 254. No se prevé que ni estas diferencias amino ni el estado de fosforilación de p38 α (FIG. 1C) alteren significativamente la estructura de los sitios CD o ED o la diana de CADD de los presentes inventores, validando de este modo el uso de la variante 1 de p38 α no fosforilada de ratón para la búsqueda por CADD y de la variante 2 de proteína p38 α recombinante humana no fosforilada para el cribado por DSF.

Identificación de sitio mediante saturación competitiva de ligandos (SILCS): Se ha completado un mapa informático de todos los posibles bolsillos de unión a ligando en p38 α , incluyendo la diana del sitio ED, usando el método de Identificación de sitios por Saturación competitiva de ligandos (SILCS) (FIG. 6, sitios de unión potenciales en verde). El método SILCS crea un mapa de energía libre (energía sin red eléctrica; FragMaps de GFE) del patrón de interacción de grupos funcionales de p38 α que permite la identificación de sitios de unión putativos y estimaciones rápidas de la energía libre de la unión del ligando a los diversos sitios de p38 α (ligando GFE o LGFE). Los FragMaps de GFE por SILCS tienen en cuenta la flexibilidad de las proteínas, la desolvatación de las proteínas, la desolvatación de los grupos funcionales, así como las interacciones entre grupos funcionales y proteínas, produciendo de este modo un mapeo muy preciso de la proteína para su uso en el cribado de bases de datos y en la optimización de compuestos líderes. Cada cribado informático de CADD por etapas de cualquier base de datos de compuestos comienza con el enfoque de farmacóforos de SILCS, que tiene en cuenta la flexibilidad de las proteínas. El cribado secundario se basa en el enfoque de MC SILCS, a partir del cual se calculan las energías libres relativas de unión. Un cribado final basado en la diversidad química, las propiedades fisicoquímicas que maximizan las características de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) y el potencial de optimización química, genera una lista de compuestos para probar su unión selectiva a p38 α y su actividad biológica. Se realizan rondas adicionales de cribado usando estrategias de CADD modificadas basándose en los análisis proteómicos y estructurales de los compuestos líderes. Las búsquedas en la base de datos de análogos estructurales de compuestos líderes de rondas anteriores se realizan usando el programa MOE (Chemical Computing Group).

Metodología de CADD alternativa: El programa Dock puede usarse con puntuación basada en la energía de interacción Dock van der Waals (vdW) normalizada para el peso molecular (PM). Este método identifica compuestos que se ajustan estéricamente al sitio de unión, al tiempo que se inclina hacia los compuestos de bajo PM. En la clasificación adicional de compuestos se usan métodos de respuesta lineal generalizada y se incluye la energía libre de solvatación basada en el modelo implícito de disolvente de Born Generalizado (GB).

Dianas alternativas de p38 α : la estrategia de búsqueda puede modificarse para dirigirse a los sitios CD o DEF. Puesto que la formación del bolsillo DEF requiere la activación de p38 α , se usa p38 α fosforilada dualmente para su cribado de DSF.

Fluorimetría diferencial de barrido (DSF): La unión de los compuestos seleccionados por CADD a las isoformas p38 α y β se probó experimentalmente usando DSF, que evalúa los cambios en la temperatura de fusión de la proteína diana (ΔT_m) debidos a las interacciones con el compuesto de ensayo. Se añadieron SYPRO naranja (Invitrogen; diluido 1:1000 en HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, pH 7,5) y p38 α humana recombinante no fosforilada 1 μ M en placas de PCR de 96 pocillos, después se añadieron compuesto de ensayo de 50 nM a 200 μ M en DMSO al 100 % (concentración

final de DMSO del 2 %), las placas se mezclaron, se sellaron, se centrifugaron a 1000 rpm durante 1 min, y se realizó una curva de fusión usando un instrumento de PCR en tiempo real de Applied Biosystems. El punto de fusión se determinó a partir de la primera curva de derivadas. Asimismo, se usan p38 β o un mutante de p38 α de diana alterada.

- 5 Aunque la DSF es menos sensible que otros ensayos de unión ligando:proteína, es de bajo coste y tiene un rendimiento relativamente alto. La DSF detectó la unión a p38 α del 25 % de los compuestos identificados por CADD cribados y la unión selectiva a p38 α del 10 %, demostrando una buena eficacia de las estrategias de cribado por CADD y por DSF. La tasa de aciertos del 10 % de la búsqueda por CADD de inhibidores de p38 α selectivos de sustrato fue similar a la de la búsqueda de inhibidores de ERK selectivos de sustrato-12469254-1, y mucho mayor que la tasa de aciertos habitual del 0,1-0,01 % usando únicamente cribado experimental.

15 Cultivo celular: Las HMVECL se adquirieron en Promocell (Heidelberg, DE), se mantuvieron en Medio de Crecimiento de Células Endoteliales MV2, se usaron en el pase 3 a 10, y se estudiaron en postconfluencia de acuerdo con el protocolo del proveedor. La estirpe celular de monocitos humanos THP1 (American Type Culture Collection/ATCC N.º TIB202) se mantuvo en RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, piruvato de sodio 1 mM, tampón Hepes 10 mM, pH 7,3, penicilina, estreptomycin, β -mercaptoetanol 0,05 mM y suero fetal bovino al 10 % definido (FBS; Gibco, Life Technologies, Grand Island, NY). Se cultivaron células HeLa (ATCC N.º CCL-2) en DMEM con 4,5 g/l de glucosa, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, penicilina, estreptomycin y FBS al 10 %. Antes de las exposiciones experimentales, las células THP1 se diferenciaron tratándolas con 12-miristato 13-acetato de forbol 20 5 ng/ml (PMA, Sigma-Aldrich) durante 24 h, se lavaron con PBS y cultivaron a 37 °C en medio sin PMA durante 24 h adicionales.

25 Ensayo de permeabilidad endotelial: La permeabilidad de monocapas de HMVECL se evaluó midiendo el flujo transendotelial de dextrano de 10 kDa conjugado con colorante fluorescente azul Cascade durante 30 min a 37 °C en placas Transwell de 3 μ m de tamaño de poro recubiertas con Matrigel.

30 Las células se tratan con el compuesto de ensayo a 1-100 μ M, SB203580 10 μ M o DMSO durante 1 h, después con rhTNF α 10 ng/ml a 39,5 °C durante 6 h y se evalúa la permeabilidad añadiendo dextrano 100 μ g/ml de 10 kDa conjugado con azul Cascade en el pocillo inferior durante 30 min a 37 °C y analizando la fluorescencia (400/420 nm) en el pocillo superior.

35 Ensayo de migración transendotelial de neutrófilos (TEM): Se aislaron neutrófilos de sangre venosa heparinizada que se recogió de voluntarios sanos mediante un protocolo aprobado por la Junta de Revisión Institucional de la Universidad de Maryland y se midió la TEM de neutrófilos marcados con calceína a través de las HMVECL.

La citotoxicidad de las HMVECL expuestas a 10-100 μ M de cada compuesto se analiza mediante el ensayo MTS (Promega), liberación de LDH (Promega) e inmunotransferencia para caspasa-3 activada (Cell Signaling).

40 Expresión de citocinas por macrófagos: La capacidad de los compuestos de ensayo para bloquear la expresión de citocinas inducida por LPS se evalúa en células THP1 diferenciadas con PMA usando qRT-PCR e inmunoensayos basados en Luminex (UMB Cytokine Core Lab). Se tratan células THP1 diferenciadas con PMA 5 ng/ml durante 24 h con compuesto de ensayo 1-100 μ M, SB203580 10 μ M o DMSO durante 1 h, después con LPS de *E. coli* ultrapuro 0111:B4 100 ng/ml (InvivoGen) durante 3 h (qRT-PCR; Real Time Primers) o 24 h (sobrenadantes para inmunoensayos).

45 Modelo de lesión pulmonar aguda en ratón: Se adquirieron ratones CD-1 machos de 25-30 g de peso en Charles River y se alojaron en las instalaciones de cuidado de animales del Centro Médico de la Administración de Veteranos de Baltimore en condiciones aprobadas por la AALAC. Todos los protocolos fueron aprobados por el IACUC de la Universidad de Maryland Baltimore. Los inhibidores se probaron en un modelo de LPA inducida por LPS/FRH en ratones. Los ratones se pretrataron con SB203580 o con posibles inhibidores de p38 en DMSO \leq 2 % mediante inyección i.p. de 0,5 ml 1 h antes de la instilación i.t. de 50 μ g de LPS y del cambio a una incubadora a 37 °C, lo que aumenta la temperatura central a \sim 39,5 °C. Los ratones se sometieron a eutanasia después de 24 h, los pulmones se lavaron con un total de 2 ml de PBS, las células se contaron y se analizó el contenido proteínico del líquido de lavado sin células mediante el método de Bradford (Biorad).

50 Los animales se anestesian con isoflurano inhalado durante la cirugía para implantar termistores intraperitoneales. Los ratones reciben buprenorfina analgésica 0,05 - 0,1 mg/kg s.c. cada 12 h durante 2 días postoperatorios. Si se produce angustia significativa durante el modelo de LPA se administra analgesia con buprenorfina. El LPS se administra en 50 μ l de PBS mediante instilación en la orofaringe posterior durante la anestesia con isoflurano. Los inhibidores de p38 se administran mediante inyección i.p. con una aguja de 25 g con el ratón consciente y ligeramente sujeto.

60 La combinación de FRH y LPS intratraqueal induce una fuerte afluencia de neutrófilos pulmonares, expresión de citocinas y fuga de proteínas a las 12-24 h y un 50 % de mortalidad a partir de las 48 h. UM101 fue más potente que SB203580 en la reducción de la acumulación de neutrófilos y proteínas en el BAL en este modelo. Por lo tanto, para minimizar el número de ratones necesarios para este cribado, la lesión pulmonar, la inflamación pulmonar y extrapulmonar, y la toxicidad farmacológica se miden en un único punto temporal de 24 h, incluyendo el contenido de

proteínas, neutrófilos y citocinas proinflamatorias de BAL, los niveles séricos de IL-6, creatinina y AST (Abcam), y la troponina I cardíaca (MyBiosource). Los compuestos novedosos se prueban a dosis de 4, 12 y 40 mg/kg y se comparan con controles tratados con vehículo (DMSO) y SB203580 (40 mg/kg). Todos los ratones tratados con vehículo y fármaco se exponen a LPS/FRH i.t. y se comparan con ratones sin tratamiento previo. Se pueden usar 4 ratones por grupo.

Generalmente, el cribado se realiza en modelos de prevención y los candidatos finales también se evalúan en un modelo de tratamiento.

10 Inhibición de la fosforilación de sustratos: Se realizó un análisis funcional de UM101 para bloquear la fosforilación dependiente de p38 de MK2 y Stat-1 en células HeLa. Las células se pretrataron con SB203580 o UM101 durante 30 min y después se activaron con 10 μ M de anisomicina durante 30 min. Los extractos celulares preparados en tampón RIPA con inhibidores de proteasas y fosfatasa se resolvieron mediante SDS-PAGE, se transfirieron a membrana de PVDF, se bloquearon con leche en polvo desnatada al 5 %, se sondearon con anticuerpos primarios contra MK2 fosforilada y Stat-1, y p38 α total como control de carga. Las bandas se detectaron usando anticuerpos secundarios conjugados con fluoróforos infrarrojos y formación de imágenes de fluorescencia infrarroja (Odyssey; LICOR).

20 Ensayo de citotoxicidad: La citotoxicidad se monitorizó en monocapas paralelas de HMVEC-L establecidas en placas de cultivo de 96 pocillos mediante un ensayo colorimétrico que medía la reducción de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfonil)-2H-tetrazolio (MTS) a un colorante de formazán (CellTiter 96™; Promega; Madison, WI) de acuerdo con el protocolo del fabricante y cuantificando la formación de producto midiendo la absorción a 490 nm.

25 Expresión génica: La integridad del ARN se confirmó mediante el bioanalizador Agilent 2100 y se confirmó que todas las muestras tenían una puntuación de integridad del ARN (RIN) de 10 antes de continuar con el análisis. Las muestras enriquecidas en poli(A) se retrotranscribieron y se secuenciaron usando la plataforma HiSeq de Illumina para generar al menos 90 millones de lecturas por muestra. La secuencia intergénica representó menos del 0,7 % de todas las lecturas, lo que indica una contaminación mínima de ADN genómico. Los datos en bruto se analizaron usando la herramienta de alineación de lecturas TopHat y la secuencia genómica de referencia de *Homo sapiens* (Ensembl versión GRCh38.78). La expresión génica diferencial se analizó usando el paquete DESeq R (Bioconductor) y el modelo binomial negativo. Los criterios para determinar diferencias significativas en la expresión génica fueron (1) tasa de falsos descubrimientos (FDR) <0,05, (2) nivel de expresión > percentil 10, y (3) factor de cambio ≥ 2 . Los patrones de expresión génica diferencial se analizaron adicionalmente usando las herramientas PathwayNet (Troyanskaya Lab, Princeton) e Ingenuity™ Pathway Analysis (Qiagen). La expresión génica de citocinas en células THP1 se analizó mediante RT-PCR cuantitativa usando cebadores de una matriz de PCR disponible en el mercado (matriz HCA-II; Cebadores de tiempo real; Elkins Park, PA) y mezcla de reacción SYBR-verde (Biorad), y un módulo óptico BioRad iCycler IQ de acuerdo con el protocolo del proveedor. Los datos se cuantificaron usando el método de diferencia de Ct de expresión génica y se normalizaron con respecto a los niveles del gen constitutivo, GAPDH, usando valores de Ct determinados automáticamente mediante el termociclador.

45 Diferencia de transferencia de saturación-Resonancia magnética nuclear (STD-RMN): Se preparó una solución madre 40 mM de UM101 en d6-DMSO. Las muestras de STD-RMN contenían NaCl 150 mM, fosfato 50 mM, pH 7, UM101 200 μ M y proteína p38 5 μ M en D2O. Los espectros se registraron en un espectrómetro Agilent DD2 de 500 MHz equipado con un cabezal de sonda HFCN inverso de 5 mm a 26,85 °C (300 K). Durante cada transitorio, la proteína se saturó con una serie de 58 pulsos con forma gaussiana (50 ms, 1 ms de retardo entre pulsos) usando la secuencia de pulsos STD-ES suministrada por el proveedor, para un tiempo total de saturación de 3 segundos. La irradiación con resonancia de la proteína se realizó a 0,5 ppm y la irradiación sin resonancia a 30 ppm. Se usó la secuencia de pulsos WATERGATE suministrada por el proveedor para suprimir la señal de agua en el espectro de STD. Las secuencias de impulsos con resonancia y sin resonancia se restaron internamente. Se recogieron un total de 16.384 transitorios para cada experimento de STD con un retraso de 1 segundo entre las adquisiciones, anchura espectral de 6000 Hz y tiempo de adquisición de 1,3 segundos.

55 Perfiles comparativos de expresión proteómica y de fosfopéptidos mediante espectrometría de masas (EM): La expresión de proteínas y el porcentaje de fosforilación de proteínas específicas se cuantifican sin marcadores mediante técnicas basadas en la espectrometría de masas. Específicamente, los efectos de los compuestos de la invención se comparan con SB203580 en el patrón de fosforilación de proteínas y la expresión proteómica en células HMVECL estimuladas con TNF α y células THP1 estimuladas con LPS usando CL-EM/EM. Las células se pretratan durante 30 min con SB203580 10 μ M o compuesto de ensayo a CE₅₀ y CE₉₀ (según los ensayos de permeabilidad HMVECL y de expresión de IL-8 en THP1). Para el análisis de fosfopéptidos, las células se estimulan durante 0,5, 1,5 y 4 h. Los fosfopéptidos tripticos se enriquecen usando un protocolo de enriquecimiento de TiO₂ (Pierce) disponible en el mercado, después se analizan en un espectrómetro de masas Thermo Orbitrap Fusion Tribrid acoplado a nanoUPLC usando tres estrategias: (1) disociación híbrida de transferencia de electrones (ETD)/colisión de alta energía (HCD) (EThcD); (2) lógica de árbol de decisión dependiente de datos (DDDT); (3) ETD dependiente del producto de HCD (HCD-pd-ETD); y/o (4) nanoUPLC acoplado al espectrómetro de masas Waters Synapt G2S, usando EM paralela ligada a movilidad iónica (UDMS[®]). Para el análisis comparativo de la expresión proteómica, las células se estimulan

durante 4 y 12 h y los lisados se analizan en el Waters Synapt G2S acoplado a nanoUPLC y/o en el Thermo Orbitrap Fusion Tribrid acoplado a nanoUPLC usando UDMS^E y ADAPT-DDA, respectivamente. La abundancia relativa de péptidos se mide comparando el área del pico de EM1 de los iones peptídicos, cuyas identidades y eventos de fosforilación se confirman mediante secuenciación de MS2 usando las diferentes estrategias de fragmentación descritas anteriormente (ET^hcD, DDDT, HCD-pd-ETD y UDMS^E). Para la cuantificación sin marcadores se usa un algoritmo de cuantificación en clúster AMRT (masa y tiempo de retención precisos) alineado, como se describe.

Análisis de inmunotransferencia: Los cambios en el proteoma total *in vivo* y el fosfoproteoma se confirman mediante inmunotransferencia usando anticuerpos comerciales e imágenes de fluorescencia infrarroja (Odyssey; LICOR). Los ensayos de cinasa *in vitro* se realizan en reacciones que contienen p38 α activa recombinante y una o más proteínas sustrato recombinantes y se analizan mediante inmunotransferencia con anticuerpos fosfoespecíficos.

Cristalografía de rayos X: La cristalografía de rayos X proporciona un análisis de mayor resolución de la unión del compuesto a p38 α . El enfoque principal para cultivar p38 α incluye la cocrystalización de cristales de compuestos con una relación molar de compuesto:p38 α de 2:1. Como alternativa, los compuestos se remojan/eqilibran en cristales p38 α preformados. Se cultivan y se criban cristales de proteína de calidad de difracción usando un sistema automatizado que comprende una criba Alchemist DT, un colocador de gotas Gryphon con módulo LCP y un sistema de visualización automatizado Minstrel DT UV/Vis (Rigaku). Estas estructuras se resuelven mediante métodos de reemplazo molecular usando estructuras conocidas de p38 α y software estándar de análisis cristalográfico (SBGrid).

Análisis de la cinética de unión a p38: La KD para los compuestos de la invención se estima mediante DSF. Se realiza ITC para refinar el cálculo de la KD de los compuestos y producir información termodinámica para facilitar la optimización del ligando. Los datos se recogen en un microcalorímetro Auto ITC HT (MicroCal). La p38 α recombinante (10 μ M) y la concentración madre de los compuestos de ensayo (200 μ M) se preparan en tampones idénticos de baja energía de ionización (por ejemplo, fosfato o citrato 50 mM con NaCl 50 mM) y se desgasifican. La generación/absorción de calor durante la valoración del compuesto se mide y analiza con el software MicroCal.

Análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) de los compuestos líderes: Los compuestos se analizan exhaustivamente para determinar su toxicidad *in vivo* y su eficacia como prevención y tratamiento en el modelo de LPA intratraqueal en ratón inducido por LPS+FRH. Este modelo es un modelo a corto plazo del SDRA humano, susceptible de dosificación parenteral de agentes terapéuticos, caracterizada por una amplia permeabilidad endotelial, acumulación de neutrófilos, expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, lesión epitelial y ~50 % de mortalidad a partir de las 48 h. Los resultados son generalizables a otras enfermedades inflamatorias. Los compuestos se solubilizan en una concentración final de \leq DMSO al 1 % y se administran en una única inyección intraperitoneal. La dosis máxima tolerada (MTD) se determina monitorizando a los ratones durante 24 h para detectar signos de malestar (incluidos cambios en la actividad locomotora, pérdida de peso, aseo reducido y pelaje erizado), creatinina, NUS, aspartato transaminasa (AST) y troponina cardíaca. Los inhibidores se administran 30 min antes u 8 h después de LPS+FRH como modelos de prevención o tratamiento, respectivamente.

Número y sexo del animal: Todas las pruebas se realizan en ratones CD1, una cepa robusta en la que se han validado modelos de LPA y neumonía. El escalado de dosis utiliza 2 ratones por dosis y 24 h de observación de acuerdo con las directrices publicadas. Las diferencias de supervivencia se comprueban en grupos de 20 ratones (para detectar diferencias de supervivencia del 75 % frente al 25 %; $\alpha = 0,05$; $\beta = 0,2$). Se usan grupos de 6 ratones para el análisis del BAL y del plasma de lesión/inflamación y homogeneizados pulmonares para el análisis de la señalización apoptótica y grupos de 4 ratones para histología. Los experimentos de supervivencia se realizan en igual número de ratones machos y hembras y las diferencias se comparan mediante ANOVA de 2 vías. Se añaden adicionalmente experimentos para analizar cualquier diferencia de género inesperada que se encuentre en los efectos de los fármacos. En algunas realizaciones, en los experimentos se usarán ratones macho.

La dosis máxima tolerada de los compuestos más potentes, estructuralmente distintos, se determina midiendo la toxicidad de 20, 40 y 80 mg/kg i.p. en 2 ratones por dosis, monitorizados durante 24 h y eutanasiados. Se analiza el suero en busca de toxicidad hepática, renal y cardíaca. Los riñones, el corazón, el hígado y el pulmón (inflado) se fijan, se introducen en parafina, se tiñen con HyE y se examinan para detectar inflamación y lesiones. Los ratones de control reciben vehículo (DMSO al 1 %). Los compuestos tóxicos se reemplazan por el siguiente compuesto estructuralmente distinto de la lista de candidatos.

La actividad de los inhibidores en el bloqueo de FRH aumentó la LPA inducida por LPS: Los compuestos se prueban a la MTD en el modelo de LPA inducido por LPS+FRH.

Efecto del pretratamiento sobre la supervivencia: Se compara la eficacia del pretratamiento con los compuestos de ensayo a la dosis máxima permitida sobre la supervivencia en ratones expuestos a LPS/FRH con SB203580 40 mg/kg y vehículo (DMSO al 1 %) en grupos de 20 ratones. Los ratones reciben el pretratamiento como una única inyección de 0,5 ml y 30 min después reciben 50 μ g de LPS mediante instilación i.t. y se colocan a 37 °C de temperatura ambiente. Esta exposición aumenta la temperatura central de 36,5 °C a 39,5 °C, pero se confirma en algunos ratones usando monitorización telemétrica de la temperatura (Data Sciences International; St. Paul, Minnesota). Se controla la supervivencia de los ratones usando la moribundidad como sustituto de la muerte. Los compuestos que muestran

una ventaja de supervivencia frente al DMSO se analizan posteriormente para determinar su eficacia cuando se administran 24 h después del LPS. Los compuestos ineficaces se reemplazan por el siguiente compuesto de la lista de candidatos. Los compuestos eficaces se prueban además al 10 % y al 30 % de la MTD.

- 5 Efecto de la dosificación post-LPS sobre la supervivencia: Los compuestos que son eficaces como pretratamiento se analizan para determinar su eficacia a las mismas dosis usando el mismo protocolo, excepto retrasando la dosificación hasta 8 h después de la instilación de LPS y el inicio de la FRH. Se analizan los efectos biológicos y la PK de los compuestos que confieren una ventaja de supervivencia frente a SB203580. Los compuestos ineficaces se reemplazan por el siguiente compuesto de la lista.

- 10 Efecto de los compuestos sobre la inflamación, la lesión pulmonar y la permeabilidad: Los compuestos más eficaces en los experimentos de supervivencia se analizan posteriormente para determinar sus efectos sobre la lesión pulmonar y la inflamación en el modelo de LPS+FRH LPA. Los ratones son pretratados con cada compuesto a su DE50 basada en los experimentos de supervivencia, SB203580 40 mg/kg o DMSO 30 min antes u 8 h después de la exposición a LPS/FRH y eutanasia 24 h después de LPS. En 6 ratones por grupo, se recoge el BALF y se analiza su contenido de neutrófilos mediante el recuento de citopreparaciones teñidas con Giemsa modificado, proteína total mediante el método de Bradford, y niveles de citocinas mediante inmunoensayo basado en Luminex (UMB Cytokine Core Lab). Después del lavado, los pulmones se extirpan, se congelaron en nitrógeno líquido y se preparan homogeneizados para inmunotransferencia de sustratos de p38 α candidatos para confirmar los efectos de inhibidores de sustrato encontrados *in vitro*. Los pulmones de 4 ratones por grupo se inflan/fijan a 20 cm FLO con Prefer™, se incluyen en parafina, se tiñen con HyE o inmunotinción con GR-1 para analizar la lesión pulmonar y la infiltración de neutrófilos, y tinción con TUNEL e inmunotinción para caspasa-3 activa para evaluar la apoptosis. Se mide la IL-6 sérica como indicador de inflamación sistémica.

- 25 Farmacocinética de modificadores de p38 novedosos: Se caracteriza la PK de los compuestos eficaces en ratones. En primer lugar, se desarrolla y valida un método bioanalítico para cada compuesto de acuerdo con las directrices de la FDA. Después, se realizan estudios de PK para determinar la absorción pulmonar y los parámetros clave de PK que caracterizan a cada compuesto (es decir, el aclaramiento (CL), volumen de distribución (Vd), concentración plasmática máxima (C_{máx}), tiempo hasta alcanzar la C_{máx} (T_{máx}), área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC) y semivida (t_{1/2}). Los parámetros PK se usan para estimar el tiempo necesario para alcanzar la concentración plasmática en equilibrio (equivalente a cinco semividas), y para guiar la selección de la dosis en posteriores estudios de PD. Asimismo, estos estudios ayudan a clasificar los *modificadores de p38* probados en función de su relaciones de conc. en pulmón/plasmática. En cada estudio, se tratan ratones CD1 (n = 30) con una dosis única i.p. (10 - 50 mg/kg) del modificador de p38 seleccionado (el intervalo de dosis para cada modificador de p38 depende del resultado de los estudios descritos anteriormente. En algunas realizaciones, los ratones (n = 3/punto temporal) son eutanasiados antes de la dosis y a los 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 600, 720 min después de la dosis. Las muestras de sangre y pulmón se analizan usando métodos validados de HPLC.

- 40 Análisis de los datos: Se deducen las vías modificadas por los compuestos de la invención en comparación con el SB203580: (1) analizando la expresión comparativa del proteoma usando Ingenuity Pathway Analysis y PathwayNet, de forma similar a los datos de RNASeq de UM101; y (2) analizando el fosfoproteoma comparativo mediante enfoques cuantitativos y bioinformáticos. Los resultados de la espectrometría de masas se confirman analizando la fosforilación de los sustratos candidatos en células y ensayos *in vitro* de cinasas mediante inmunotransferencia. La unión inespecífica sugerida por los datos proteómicos se evalúa en un amplio intervalo de concentración del compuesto de ensayo mediante DSF y STD-RMN y mediante fosfoinmunotransferencia para sustratos específicos y se confirma en reacciones de cinasas *in vitro*. Mediante la identificación de vías comunes modificadas por múltiples compuestos principales y sus interacciones con p38 α , se deducen los efectos p38 α comunes necesarios para su actividad biológica favorable y se incorporan al algoritmo de CADD para las búsquedas posteriores y la optimización de compuestos líderes.

- 50 Puesto que el objetivo de esta invención es, en una realización, identificar y caracterizar las propiedades PD/PK de los compuestos antiinflamatorios novedosos, estos compuestos se prueban en una realización, por orden de actividad en función de los cribados funcionales, y los compuestos con toxicidad o eficacia inadecuadas en los estudios de supervivencia se reemplazan por el siguiente compuesto más potente y estructuralmente disímil. Los compuestos se comparan con el vehículo solo y SB203580 usando ANOVA unidireccional/PLSD de Fisher. Los datos PK se analizan mediante el método de promediado virgen. Se usa modelización compartimental para estimar diversos parámetros farmacocinéticos usando la plataforma Phoenix (ver. 1.3, Pharsight, Sunnyvale, CA). Se evalúan varios modelos compartimentales para determinar el que mejor se ajusta. Se utilizan diversos esquemas de ponderación, incluido el de igual peso, $1/y$, $1/y^{\wedge}$, $1/y^2$ y $1/y^{\wedge 2}$, donde y es la concentración de fármaco observada e y^{\wedge} es la concentración de fármaco predicha por el modelo. En algunas realizaciones, se selecciona un modelo final basándose en gráficos de bondad de ajuste, suma residual ponderada de cuadrados, distribución aleatoria de residuos, precisión de las estimaciones de parámetros, criterios de información de Akaike y criterios de Schwarz. Una vez desarrollado el modelo final, se presentan estimaciones de los parámetros PK, incluyendo CL plasmático, Vd, C_{máx}, T_{máx}, AUC y t_{1/2}. La captación pulmonar se representa como una relación de concentración pulmón/plasma (L/P).

- 65 Enfoques alternativos: Si no se dispone de anticuerpos fosfoespecíficos y la fosforilación no provoca desplazamientos

detectables en las inmunotransferencias, los lisados celulares pueden enriquecerse usando TiO_2 antes de la inmunotransferencia. Los tiempos de incubación pueden ajustarse, según sea necesario, basándose en resultados de proteómica e inmunotransferencia *in vitro* e *in vivo*. La baja abundancia de proteínas podría impedir la detección de fosfoproteínas en lisados celulares a pesar de disponer del máximo material de partida o de usar fracciones celulares aisladas. En este caso, el análisis del fosfoproteoma celular *in vivo* puede aumentarse usando CL-EM-EM para analizar exhaustivamente los efectos de los inhibidores sobre los patrones de fosfopéptidos en ensayos de cinasa p38 α *in vitro* usando lisados celulares como sustrato tras inactivar las cinasas endógenas con 5'-4-fluorosulfonilbenzoiladenosina (FSBA). Puede usarse marcaje con isótopos de dimetilo estables en caso de resultados ambiguos sin marcaje. Otras tecnologías de apoyo incluyen la espectroscopía de masas por intercambio de deuterio-hidrógeno y la RMN, así como la unión evaluada por DSF/STD-RMN a p38 α de tipo silvestre y a mutantes diana de CADD. La resonancia de plasmón superficial (SPR) (Biacore T200 Core) puede evaluarse como alternativa a la ITC para reducir los requisitos de proteínas/compuestos.

Métodos estadísticos: Los datos se presentan como la media \pm EEM. Las diferencias entre > 2 grupos se analizaron aplicando un ensayo de Tukey de Diferencia Honestamente Significativa a un análisis unidireccional de la varianza (ANOVA). Las diferencias entre las curvas dosis-respuesta se analizaron mediante ANOVA multivariante (MANOVA). Las diferencias con $p < 0,05$ se consideraron significativas.

Ejemplo 1: Modelado por CADD del sitio de acoplamiento de sustrato de MAPK p38, identificación de compuestos y cribado de compuestos para detectar la interacción selectiva y directa con p38 α

Los inhibidores y métodos de la invención se refieren a una estrategia basada en CADD para identificar compuestos de bajo peso molecular predichos para unirse cerca del sitio de acoplamiento de sustrato ED de p38 α no fosforilada de ratón (variante-1 de MAPK14; PDB: 1P38), que es $> 99\%$ idéntica a la p38 α humana (variante-2) (FIG. 1A). Los sitios ED y CD en p38 α se encuentran en cada extremo de una hendidura de unión a sustrato situada en el lado opuesto de la proteína desde el sitio catalítico (FIG. 1A). Se identificó un bolsillo próximo al sitio de unión ED que comprende 10 aminoácidos, sólo 7 de los cuales eran idénticos en p38 α y p38 β (FIG. 1B). La superposición de estructuras de p38 α no fosforilada (PDB:1P38) y doblemente fosforilada (PDB:3PY3) de ratón reveló una casi superimposición del bolsillo diana en las dos formas (FIG. 1C).

En la FIG. 1D se muestra una visión general de los protocolos de cribado por CADD y de ensayo de compuestos. Se analizó la unión de los compuestos de la Colección de cribado Maybridge al bolsillo p38 α diana basándose en las energías de Van Der Waals (VDW) y de interacción electrostática, la diversidad química mediante el análisis de grupos basados en distintivos químicos, la solubilidad, el peso molecular y número de grupos funcionales de enlace de hidrógeno que maximizan la biodisponibilidad.

Se seleccionaron veinte compuestos estructuralmente disímiles para el análisis funcional (Tabla 2), de un panel de 150 compuestos diversos (Tabla 3) que se seleccionaron para posibles ensayos biológicos.

Tabla 2: Candidatos de unión al sitio ED de p38 α identificados por CADD cribados para determinar la unión a p38 α

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²	ΔT_m DE p38 α (°C) a 100 μM ³	ΔT_m DE ERK2 (°C) a 100 μM ³
2	SEW 06373	417	3,19	-0,05	0,412
3	HTS 02798	415	0,67	0,282	0,337
4	HTS 13333	312	-1,10	0,065	0,452
5	SCR 00846	418	2,22	0,808	0,628
8	AW 00509	317	1,13	-0,07	0,531
13	SEW 06264	309	0,28	0,005	0,390
16	SCR 00610	339	1,69	-0,052	0,444
23	SCR 01200	378	2,79	-0,488	-0,598
29	BTB 05645	350	3,07	-0,353	0,342
31	KM 04113	304	1,83	-0,278	0,153
43	CD 11992	300	1,16	-0,485	0,151
55	SP 01164	2,11	1,92	-0,506	0,022
60	BTB 13869	426	0,28	0,735	0,195
63	PD 00612	294	0,61	-0,287	0,075
69	KM 00081	345	1,68	-0,233	0,361

(continuación)

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²	ΔT_m DE p38 α (°C) a 100 μM^3	ΔT_m DE ERK2 (°C) a 100 μM^3
101	HTS 05732	378	2,31	0,667	0,0175
115	NRB 03986	278	3,88	-0,156	0,246
141	SEW 02182	318	2,46	0,554	0,238
146	KM 10445	313	2,55	-1,084	-1,632
150	HTS 03239	341	1,68	-0,171	0,133

¹ ID de compuestos de la cartera Maybridge.² logP es el logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua estimado, una medición de la solubilidad de los compuestos5 ³ Cambio en la temperatura de fusión con respecto al control de DMSO en el ensayo de DSFTabla 3: Mejores 150 candidatos de unión al sitio ED de p38 α identificados por CADD

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²
1	AW 1221	442	3,84
2	SEW 06373	417	3,19
3	HTS 02798	415	0,67
4	HTS 13333	312	-1,10
5	SCR 00846	418	2,22
6	HTS 01830	400	4,15
7	KM11105	409	1,27
8	AW 00509	317	1,13
9	SCR 01457	401	2,12
10	KM 09878	362	2,45
11	BTB 10384	434	2,32
12	HTS 03243	419	3,46
13	SEW 06264	309	0,28
14	CD 06142	382	3,29
15	KM 08516	382	2,03
16	SCR 00610	339	1,69
17	KM 09250	364	0,87
18	SCR 01462	344	-0,25
19	KM 08262	375	1,34
20	SCR 01164	430	3,44
21	HTS 05992	360	2,65
22	CD 00735	390	1,72
23	SCR 01200	378	2,79
24	SCR 01160	390	0,69
25	SCR 00883	398	2,09
26	AW 01002	331	1,49
27	KM 10346	339	1,52
28	KM 09924	374	2,25
29	BTB 05645	350	3,07
30	HTS 01722	401	3,5
31	KM 04113	304	1,83
32	SCR 00662	338	2,62

ES 3 025 468 T3

(continuación)

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²
33	RJC 02765	348	1,21
34	HTS 08093	330	0,50
35	KM 09335	352	1,08
36	HTS 06913	355	1,52
37	KM 07646	296	0,23
38	KM 06447	355	2,44
39	HTS 01903	444	2,51
40	KM 06789	333	1,38
41	EN 00285	380	2,34
42	JFD 01748	321	2,74
43	CD 11992	300	1,16
44	KM 03098	455	2,56
45	RJF 01988	450	3,99
46	RH 00635	402	4,14
47	GK 02919	363	1,17
48	KM 02331	451	3,96
49	GK 01789	360	2,91
50	GK 03735	376	1,38
51	HTS 05862	364	1,97
52	KM 07197	337	0,40
53	BTB 02067	305	1,94
54	JFD 01679	357	3,55
55	SP 01164	2,11	1,92
56	KM 00730	450	1,92
57	HTS 03184	407	3,33
58	HTS 01701	397	4,06
59	HTS 11459	409	-1,37
60	BTB 13869	426	0,28
61	RJC 00192	360	3,85
62	HTS 06577	367	3,73
63	PD 00612	294	0,61
64	HTS 09813	453	2,98
65	RJC 02517	404	1,93
66	DP 01615	356	4,00
67	DP 01320	385	3,74
68	JFD 01765	352	3,24
69	KM 00081	345	1,68
70	RDR 03171	419	2,14
71	HTS 04127	398	2,82
72	AW 00409	403	2,36
73	BTB 06009	413	2,14
74	KM 10383	443	2,81
75	HTS 05233	369	0,82

ES 3 025 468 T3

(continuación)

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²
76	KM 05297	428	0,00
77	CD 11533	373	3,22
78	KM 04839	441	3,01
79	CD 09639	460	3,00
80	HTS 04160	414	2,73
81	KM 07794	358	3,70
82	CD 04864	420	3,51
83	RDR 02594	397	3,10
84	DP 01806	435	3,43
85	HTS 03190	388	3,29
86	KM 09808	405	3,70
87	CD 09308	396	2,27
88	SPB 01817	416	3,99
89	KM 07150	411	2,05
90	KM 09339	381	0,91
91	RDR 01132	415	3,32
92	SS 00046	322	3,63
93	HTS 02914	351	1,98
94	KM 02270	381	4,08
95	CD 09636	366	1,15
96	KBK 00012	364	3,69
97	HTS 13527	337	0,78
98	BB 06821	389	3,99
99	AW 01218	343	2,37
100	PD 00703	303	0,33
101	HTS 05732	378	2,31
102	HTS 03187	357	0,79
103	HTS 05493	427	1,73
104	RJF 01945	356	3,81
105	CD 05416	378	3,30
106	CD 08365	285	1,37
107	SPB 02947	372	3,15
108	SCR 01004	357	0,95
109	HTS 05491	429	3,03
110	HTS 02224	372	0,33
111	KM 05869	421	1,45
112	KM 02112	388	3,19
113	KM 07452	347	0,49
114	RJC 02844	302	2,65
115	NRB 03986	278	3,88
116	SEW 06625	373	3,05
117	SCR 0170	320	-0,70
118	SPB 06098	373	4,07
119	FM 00079	382	3,19

(continuación)

N.º de CADD	ID del Compuesto ¹	PM	logP ²
120	BTB 03095	350	1,91
121	KM 08272	382	1,99
122	BTB 07326	458	3,97
123	HTS 10719	386	3,71
124	JFD 01751	375	1,21
125	HTS 05737	366	0,34
126	BTB 02557	300	-0,17
127	KM 01947	386	3,26
128	KM 04674	340	2,99
129	BTB 14836	358	1,88
130	KM 07275	346	3,43
131	RH 02254	321	1,27
132	S 07734	274	2,06
133	KM 03963	308	2,90
134	KM 01163	377	2,95
135	SEW 05535	324	-1,08
136	RDR 02622	321	2,97
137	AW 00695	338	-0,37
138	RJC 03556	323	1,30
139	SP 00787	415	2,74
140	JFD 02020	322	0,84
141	SEW 02182	318	2,46
142	SEW 00427	350	1,64
143	HTS 00966	311	3,43
144	HTS 02841	339	-0,16
145	KM 06585	371	2,32
146	KM 10445	313	2,55
147	KM 03965	356	3,97
148	AW 00554	345	0,36
149	HTS 01470	371	2,01
150	HTS 03239	341	1,68

¹ ID de compuestos de la cartera Maybridge.² logP es el logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua, una medición de la solubilidad de los fármacos.

Se analizó la unión de los compuestos de ensayo a 10-100 μ M a p38 α y ERK2 recombinantes usando DSF (FIG. 1E, Tabla 1). Cinco compuestos provocaron una estabilización dependiente de la concentración de p38 α , indicando unión. Tres de ellos también estabilizaron ERK2 (3, 5 y 141 resaltados en amarillo (con "***")) y dos (resaltados en azul (con "+")), UM60 (N2,N7-di(2- hidroxietil)-9-oxo-9H-2,7-fluorenedisulfonamida) y UM101 (4-cloro-N-{4-[(1,1-dioxo-llambda~6~,4-tiazinan-4-il)metil]fenil(benzamida)}, estabilizaron p38 α , pero no ERK2. Estos dos compuestos estructuralmente disímiles (FIG. 1F), añadidos a 100 μ M, aumentaron la temperatura de fusión de p38 α en ~0,7 °C, en comparación con un aumento de 6 °C con SB203580.

El acoplamiento por MC SILCS de UM101 al sitio ED y el análisis por GFE FragMap han identificado varias características estructurales que pueden modificarse para mejorar la selectividad y la potencia (FIG. 7). Los sitios modificables en UM101 corresponden a los identificados como los que interactúan con la p38 α en el análisis por RMN STD (FIG. 3F-3K).

Ejemplo de referencia 2: Efectos de los compuestos sobre las funciones de barrera endotelial

Se probó la capacidad de UM60 y UM101 para estabilizar las barreras endoteliales a macromoléculas y neutrófilos en monocapas de HMVECL estresadas por TNF α e hipertermia (FIG. 2A-2D). La exposición combinada a TNF α 1 ng/ml e hipertermia (39,5 °C) durante 6 h aumentó la permeabilidad al dextrano de 10 kDa 2,8 veces, en comparación con las células no tratadas a 37 °C. El pretratamiento con SB203580 10 μ M durante 30 min redujo la permeabilidad inducida por TNF α /hipertermia en un 50 % (FIG. 2A). El pretratamiento con UM60 a 10 y 25 μ M no tuvo ningún efecto sobre la permeabilidad, pero UM60 100 μ M redujo el aumento de permeabilidad inducido por TNF α /hipertermia en un 71 %, mientras que UM101 a 10, 25 y 100 μ M redujo el aumento de permeabilidad inducido por TNF α /hipertermia en un 74 %, 89 % y >100 %, respectivamente.

La preincubación de HMVECL a 39,5 °C durante 6 h aumentó la TEM posterior de neutrófilos dirigida por IL-8 de $22,8 \pm 0,45 \times 10^3$ a $31,8 \pm 0,54 \times 10^3$ neutrófilos (FIG. 2B). El pretratamiento con SB203580 10 μ M redujo la TEM de neutrófilos inducida por hipertermia en un 84 %. UM60 a 10 y 25 μ M y UM101 a 10 μ M redujeron el aumento de la TEM inducida por la hipertermia en un 18 %, 89 % y 95 %. UM60 a 50 μ M y UM101 a 25 y 50 μ M redujeron la TEM a niveles inferiores a los basales. Ninguno de los compuestos resultó tóxico en los ensayos de liberación de LDH y MTS cuando se añadieron a las HMVECL a 100 μ M durante 48 h.

Ejemplo de referencia 3: Comparación de la eficacia de SB203580 y UM101 en LPA de ratón

Se comparó la eficacia de UM60, UM101 y SB203580 para mitigar la extravasación transalveolar de proteínas y neutrófilos en un modelo en ratón de LPA inducida por LPS/hipertermia (FIG. 2C y FIG. 2D). Los ratones recibieron una única inyección intraperitoneal de 100, 300, 500 y/o 1000 μ g de UM101, 1000 μ g de UM60 o 1000 μ g de SB203580 en 0,5 ml de DMSO al 2 % 30 min antes de la instilación intratraqueal de 50 μ g de LPS y de transferirlos a cámaras hipertérmicas. Los ratones de control recibieron DMSO. Cuatro de seis ratones tratados con UM60, uno de los seis ratones tratados con SB203580 y uno de los once ratones de control tratados con DMSO murieron en las 24 h siguientes. Los dieciséis ratones pretratados con UM101 sobrevivieron. El lavado pulmonar de ratones tratados con DMSO, expuestos a LPS/hipertermia contenían $1,09 \pm 0,19$ mg/ml de proteínas y $3,97 \pm 1,07 \times 10^6$ neutrófilos. En comparación con los controles tratados con DMSO, la concentración de proteínas de lavado y el contenido de neutrófilos en ratones pretratados con 1000 μ g de SB203580 se redujeron en un 42 % y un 46,8 %, respectivamente. La concentración de proteínas de lavado en ratones pretratados con 100 μ g, 300 μ g, 500 μ g y 1000 μ g de UM101 se redujo en un 0, 44,1 %, 43,9 % y 92,9 %, respectivamente, y el contenido de neutrófilos en el lavado se redujo en un 44,4 %, 49,5 %, 55,3 y 54 %, respectivamente.

Ejemplo de referencia 4: Efecto de SB203580 y UM101 sobre la expresión génica inducida por LPS en promonocitos THP1 humanos

Se compararon los efectos de UM101 y SB203580 sobre la expresión de citocinas inflamatorias pretratando células THP1 diferenciadas con PMA con SB203580 25 μ M o UM101 10, 25 o 100 μ M durante 30 min, después se estimularon con LPS 100 ng/ml y se recogió ARN 4 h después para su análisis mediante una matriz de citocinas basada en PCR. De 16 genes estimulados por LPS en la matriz, SB203580 inhibió la expresión de siete, IL-1 α , IL-8, TNFSF8 (ligando de CD30), TNFSF9 (ligando de CD137), CXCL5, CCL7 y CCL17 (Tabla 4). UM101 inhibió la expresión de todos los genes inhibidos por SB203580 excepto TNFSF9, e inhibió cuatro genes insensibles a SB203580, IL-1 β , CXCL1, TNFSF15 y CCL5.

Tabla 4. Efectos de SB203580 y UM101 sobre la expresión de citocinas inducida por LPS en células THP1¹

Gen	DMSO ²	ANOVA ³	SB203580 25 μ M	P frente a LPS ⁴	UM101 10 μ M	P frente a LPS ⁴	UM101 25 μ M	P frente a LPS	UM101 100 μ M	P frente a LPS ⁴
IL-1A	453 \pm 24	< 0,0001	141 \pm 9,2	< 0,0001	424 \pm 22,6	0,74	339 \pm 13,5	0,041	88 \pm 3,33	< 0,0001
IL-8	56,5 \pm 3,3	0,0026	9,6 \pm 0,1	0,002	35,6 \pm 0,7	0,40	26,7 \pm 4,1	0,564	19,7 \pm 1,8	0,015
TNFSF8	60,5 \pm 5,5	0,0073	20,6 \pm 8,8	0,024	23,5 \pm 8,3	0,37	10,5 \pm 3,9	0,006	20,7 \pm 9,5	0,025
CXCL5	49,7 \pm 2,9	< 0,0001	3,2 \pm 1,0	< 0,0001	23,2 \pm 3,7	0,0002	8,7 \pm 2,9	< 0,0001	3,1 \pm 0,2	< 0,0001
CCL7	12,8 \pm 1,2	< 0,0001	4,2 \pm 0,3	< 0,0001	7,7 \pm 0,3	0,0036	6,2 \pm 0,9	0,0036	4 \pm 0,4	< 0,0001
CCL17	56,9 \pm 6,1	< 0,0001	21,5 \pm 3,7	0,001	30,4 \pm 4,7	0,008	11 \pm 1,0	0,0004	2,5 \pm 0,33	< 0,0001
TNFSF9	50,8 \pm 6,1	0,0046	20,7 \pm 3,1	0,0054	48 \pm 2,1	0,99	38,2 \pm 6,9	0,334	32 \pm 1,12	0,086
IL-1B	171 \pm 9,0	0,0089	187 \pm 7,4	0,988	104 \pm 21	0,382	88 \pm 9,0	0,204	51,6 \pm 5,2	0,033
CXCL1	24,5 \pm 0,5	< 0,0001	28,2 \pm 1,9	0,577	19,8 \pm 1,8	0,36	12,8 \pm 2,5	0,005	5,2 \pm 1,0	< 0,0001
TNFSF15	9,6 \pm 1,1	0,0012	10 \pm 1,1	0,998	7,6 \pm 0,9	0,544	5,4 \pm 0,8	0,053	2,9 \pm 0,6	0,003
CCL5	7,6 \pm 0,9	0,0045	3,6 \pm 0,8	0,26	3 \pm 0,5	0,018	2,7 \pm 0,2	0,008	2,6 \pm 1,2	0,006
CCL4	188 \pm 12	0,9519	188 \pm 16	ns	174 \pm 41	ns	191 \pm 57	ns	217 \pm 51	ns
CCL20	82,5 \pm 27,8	0,1189	106 \pm 15,1	ns	63 \pm 3,1	ns	63,4 \pm 1,0	ns	42,7 \pm 12,7	ns
CXCL2	122 \pm 11,0	0,9887	125 \pm 4,6	ns	128 \pm 20,0	ns	132 \pm 22,9	ns	130 \pm 6,4	ns

(continuación)

Gen	DMSO ²	ANOVA ³	SB203580 25 µM	P frente a LPS ⁴	UM101 10 µM	P frente a LPS ⁴	UM101 25 µM	P frente a LPS	UM101 100 µM	P frente a LPS ⁴
TNF	115 ± 13/1	0,6112	66,4 ± 9,6	ns	87 ± 12,4	ns	95,9 ± 21,2	ns	80 ± 14,5	ns
BMP6	8,1 ± 1,8	0,1195	4,1 ± 1,1	ns	8,9 ± 1,7	ns	7,8 ± 1,1	ns	3,9 ± 0,5	ns

¹ Todos los valores son niveles de ARNm de factor de cambio frente a células THP1 diferenciadas con PMA sin estimular

² Las células se preincubaron con DMSO al 0,4 % o con inhibidores durante 1 h, después se estimularon con 100 ng/ml de LPS durante 2 h.

³ Valores de P de ANOVA de una vía.

⁴ Valores de P del ensayo *a posteriori* de Tukey de diferencia honestamente significativa.

Ejemplo 5: Comparación de los efectos de SB203580 y UM101 sobre la expresión génica inducida por TNFα en HMVECL

Se compararon los efectos de UM101 y SB203580 sobre la expresión génica inducida por TNFα en HMVECL usando RNASeq. Se pretrataron HMVECL durante 1 h con SB203580 10 µM o UM101 100 µM, y después se estimularon con TNFα 10 ng/ml durante 3 h. Se usó una concentración de UM101 10 veces superior a su dosis biológicamente eficaz en ensayos de barrera de HMVECL, para garantizar la identificación de cualquier solapamiento parcial con SB203580. La concentración de TNFα y la duración de la estimulación utilizadas se basaron en estudios publicados anteriormente y se confirmaron mediante un análisis por qRT-PCR preliminar de la expresión de ARNm de IL-8 e IL-1β (FIG. 4). Después de filtrar los resultados de RNASeq para genes que tienen ≥ 10 lecturas en al menos una muestra por experimento, se encontraron 511 genes que fueron regulados positivamente y 520 que fueron regulados negativamente ≥ 2 veces por el tratamiento con TNFα (Tabla 5).

Tabla 5: Resultados de RNASeq filtrados para genes con al menos 10 lecturas en una muestra por conjunto

Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica: 1 = expresión aumentada con ambos inhibidores 5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580 2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580 6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580 3 = expresión disminuida con ambos inhibidores 7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580 4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580 8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000006468	1,14697638	1,42107626	1	ETV1	variante 1 de ets [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3490]
ENSG00000128917	1,25167179	1,33201352	1	DLL4	4 similar a delta (<i>Drosophila</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2910]
ENSG00000196872	1,10366409	1,62514778	1	KIAA1211L	similar a KIAA1211 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33454]
ENSG00000108984	1,34524718	1,27752638	1	MAP2K6	proteína cinasa 6 activada por mitógenos [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6846]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000229953	1,63323083	1,70115175	1	RP11-284F21.7	
ENSG00000255690	1,81451563	1,5932836	1	TRIL	interactuador de TLR4 con repeticiones ricas en leucina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 22200]
ENSG00000095739	1,11321658	1,12281058	1	BAMBI	inhibidor de BMP y activina unido a la membrana [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30251]
ENSG00000137872	2,48510888	1,90449301	1	SEMA6D	dominio sema, dominio transmembrana (TM) y dominio citoplasmático, (semaforina) 6D [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16770]
ENSG00000184185	1,18112212	1,55055314	1	KCNJ12	canal de potasio, subfamilia J de rectificación interna, miembro 12 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6258]
ENSG00000125848	1,25784422	1,46432561	1	FLRT3	proteína transmembrana 3 rica en leucina fibronectina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3762]
ENSG00000196664	-1,5535936	1,21794414	2	TLR7	receptor 7 similar a toll [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 15631]
ENSG00000119714	-1,3040616	1,22615088	2	GPR68	receptor 68 acoplado a proteína G [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4519]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000165379	-1,4439353	2,06145291	2	LRFN5	5 que contiene repeticiones ricas en leucina y dominio de fibronectina de tipo III [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20360]
ENSG00000135378	-1,1984882	-1,78258053	3	PRRG4	Gla rico en prolina (ácido G-carboxiglutámico) 4 (transmembrana) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30799]
ENSG00000145777	-1,3366525	-1,65143959	3	TSLP	linfopoyetina estromal tímica [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30743]
ENSG00000102970	-2,7303098	-1,83414345	3	CCL17	ligando 17 de quimiocina (motivo C-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10615]
ENSG00000259717	-1,4952254	-1,6963101	3	LINC00677	ARN 677 largo intergénico no codificante de proteínas [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20121]
ENSG00000205436	-1,160471	-1,47916318	3	EXOC3L4	4 similar al componente 3 del complejo exocisto [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20120]
ENSG00000100985	-1,0911796	-1,15709135	3	MMP9	metalopectidasa 9 de matriz (gelatinasa B, gelatinasa de 92 kDa, collagenasa de tipo IV de 92 kDa) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7176]
ENSG00000131203	-3,5679874	-3,51063293	3	IDO1	indoleamina 2,3-dioxigenasa 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6059]
ENSG00000276408	-3,0213604	-2,36477309	3	RP11-490B18.5	

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000169245	-4,3698367	-3,10091556	3	CXCL10	ligando 10 de quimiocina (motivo C-X-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10637]
ENSG00000091972	-1,5381554	-1,72928565	3	CD200	molécula CD200 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7203]
ENSG00000110446	-1,7310589	-1,00338842	3	SLC15A3	familia 15 de portadores de solutos (transportador de oligopéptidos), miembro 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18068]
ENSG00000111424	-1,1973169	-1,16718631	3	VDR	receptor de vitamina D (1,25-dihidroxivitamin D3) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 12679]
ENSG00000125538	-1,1725305	-1,40158693	3	IL1B	interleucina 1, beta [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5992]
ENSG00000279805	-1,4538855	-1,28507313	3	CTA-212A2.1	
ENSG00000202533	-2,8157077	-1,96733528	3	Y_RNA	ARN Y [Fuente: RFAM; Acc: RF00019]
ENSG00000181656	-2,1505992	-1,39708375	3	GPR88	receptor 88 acoplado a proteína G [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4539]
ENSG00000116031	-3,3824373	-1,54775729	3	CD207	Molécula CD207, langerina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17935]
ENSG00000159450	-1,5476653	-1,50495809	3	TCHH	trichialina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11791]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000103044	-1,1243396	-1,43377734	3	HAS3	hialuronano sintasa 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4820]
ENSG00000225492	-1,7557061	-1,3632872	3	GBP1P1	proteína 1 de unión a guanilato, pseudogén 1 inducible por interferón [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 39561]
ENSG00000145113	-1,0573157	-2,85949188	3	MUC4	mucina 4, asociada a la superficie celular [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7514]
ENSG00000164181	-1,3810632	-1,34093337	3	ELOVL7	elongasa 7 de ácido graso ELOVL [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26292]
ENSG00000169248	-4,1363549	-1,37790594	3	CXCL11	ligando 11 de quimiocina (motivo C-X-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10638]
ENSG00000162654	-2,8359479	-1,25928308	3	GBP4	proteína 4 de unión a guanilato [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20480]
ENSG00000144837	-1,5006334	-1,27452433	3	PLA1A	fosfolipasa A1 miembro A [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17661]
ENSG00000222365	-1,7462552	-2,69898993	3	SNORD12B	ARN nucleolar pequeño, 12B de caja C/D [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33573]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000237988	-3,7376706	-1,08751395	3	OR2IIP	pseudogén del receptor olfativo, familia 2, subfamilia I, miembro 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8258]
ENSG00000163735	-1,4683077	-1,01742785	3	CXCL5	ligando 5 de quimiocina (motivo C-X-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10642]
ENSG00000277105	1,8720451	-1,66179692	4	FP236383.10	
ENSG00000259498	1,51730088	0	5	RP11-244F12.3	
ENSG00000079841	1,1627696	0	5	RIMS1	exocitosis reguladora de la membrana sináptica 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17282]
ENSG00000104081	1,87839947	0	5	BMF	factor modificador de Bcl2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 24132]
ENSG00000128011	1,21234677	0	5	LRFN1	1 que contiene repeticiones ricas en leucina y dominio de fibronectina de tipo III [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29290]
ENSG00000102760	2,39873086	0	5	RGCC	regulador del ciclo celular [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20369]
ENSG00000272918	2,02570082	0	5	CTB-152G17.6	
ENSG00000158715	1,09721113	0	5	SLC45A3	familia 45 de portadores de solutos, miembro 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8642]
ENSG00000169247	1,22087519	0	5	SH3TC2	dominio SH3 y repeticiones de tetratricopéptido 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29427]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000163235	1,00798575	0	5	TGFA	factor de crecimiento transformante, alfa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11765]
ENSG00000138311	1,68539518	0	5	ZNF365	proteína de dedos de cinc 365 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18194]
ENSG00000263426	1,90751532	0	5	RN7SL471P	ARN, 7SL, citoplasmático 471, pseudogén [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 46487]
ENSG00000203883	3,1401464	0	5	SOX18	SRY (región determinante del sexo Y)-caja 18 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11194]
ENSG00000152213	2,11880858	0	5	ARL11	11 similar al factor de ribosilación de ADP [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 24046]
ENSG00000115641	1,20543525	0	5	FHL2	cuatro dominios 2 de LIM y medio [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3703]
ENSG00000163884	1,31377126	0	5	KLF15	factor 15 similar a Kruppel [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14536]
ENSG00000171223	1,07792014	0	5	JUNB	protooncogén jun B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6205]
ENSG00000137875	1,24981	0	5	BCL2L10	10 similar a BCL2 (facilitador de la apoptosis) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 993]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000119630	1,02473901	0	5	PGF	factor de crecimiento placentario [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8893]
ENSG00000157404	1,98981566	0	5	KIT	v-kit Hardy-Zuckerman 4 homólogo del oncogén vírico del sarcoma felino [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6342]
ENSG00000004799	2,74875752	0	5	PDK4	piruvato deshidrogenasa cinasa, isozima 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8812]
ENSG00000104903	1,17436711	0	5	LYL1	regulador 1 de la hematopoyesis asociado a la leucemia linfoblástica [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6734]
ENSG00000164683	2,56462289	0	5	HEY1	factor de transcripción bHLH relacionado con la familia hes con motivo de YRPW 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4880]
ENSG00000229436	2,97587733	0	5	AC073850.6	
ENSG00000074590	1,86606392	0	5	NUAK1	familia NUAK, cinasa similar a SNFI, 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14311]
ENSG00000163121	1,17777496	0	5	NEURL3	E3 ubiquitina proteína ligasa 3 neuralizada [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25162]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000171435	2,0275154	0	5	KSR2	cinasa supresora de ras 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18610]
ENSG00000225213	2,78814593	0	5	RP11- 197M22.2	
ENSG00000175556	2,1400816	0	5	LONRF3	dominio N-terminal de LON peptidasa y dedo anular 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 21152]
ENSG00000172031	1,46275504	0	5	EPHX4	epóxido hidrolasa 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23758]
ENSG00000164284	1,60799521	0	5	GRPEL2	2 similar a GrpE, mitocondrial (<i>E. coli</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 21060]
ENSG00000198774	1,92290695	0	5	RASSF9	miembro 9 de la familia (N- terminal) del dominio de asociación a Ras (RalGDS/AF- 6) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 15739]
ENSG00000109452	1,25820227	0	5	INPP4B	inositol polifosfato-4-fosfatasa, de tipo II, 105 kDa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6075]
ENSG00000071282	1,2458539	0	5	LMCD1	dominios 1 de LIM y ricos en cisteína [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6633]
ENSG00000163545	1,15652631	0	5	NUAK2	familia NUAK, cinasa similar a SNF1, 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29558]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000125968	2,63377664	0	5	ID1	inhibidor 1 de unión a ADN, proteína hélice-bucle-hélice dominante negativa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5360]
ENSG00000099260	1,50498454	0	5	PALMD	palmdelfina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 15846]
ENSG00000176641	1,2877484	0	5	RNF152	proteína 152 de dedo anular [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26811]
ENSG00000139874	1,37617951	0	5	SSTR1	receptor 1 de somatostatina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11330]
ENSG00000137834	2,51438228	0	5	SMAD6	miembro 6 de la familia SMAD [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6772]
ENSG00000259721	1,0709029	0	5	RP11-758N13.1	
ENSG00000181800	2,42803687	0	5	CELF2-AS1	ARN 1 antisentido de CELF2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23515]
ENSG00000184523	2,14599043	0	5	PTGER4P2	pseudogén 2 del receptor 4 de prostaglandina E (subtipo EP4) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 9598]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000101187	1,12788457	0	5	SLCO4A1	familia de transportadores de aniones orgánicos portadores de solutos, miembro 4A1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10953]
ENSG00000237512	1,72226772	0	5	UNC5B-AS1	ARN 1 antisentido de UNC5B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 45096]
ENSG00000156463	1,43711148	0	5	SH3RF2	dedo anular 2 que contiene dominio SH3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26299]
ENSG00000137672	1,41739616	0	5	TRPC6	receptor potencial transitorio del canal de cationes, subfamilia C, miembro 6 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 12338]
ENSG00000138135	2,4356406	0	5	CH25H	colesterol 25-hidroxilasas [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1907]
ENSG00000183691	1,18113108	0	5	NOG	nogina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7866]
ENSG00000139174	2,23155754	0	5	PRICKLE1	homólogo 1 de prickle (<i>Drosophila</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17019]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000188305	1,46592995	0	5	C19orf35	marco de lectura abierto 35 del cromosoma 19 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 24793]
ENSG00000082497	3,01359039	0	5	SERTAD4	4 que contiene dominio SERTA [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25236]
ENSG00000134215	1,69084	0	5	VAV3	factor de intercambio de nucleótidos de guanina vav 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 12659]
ENSG00000242902	1,87508823	0	5	RP11-309L24.2	
ENSG00000027075	1,03323842	0	5	PRKCH	proteína cinasa C, eta [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 9403]
ENSG00000203280	1,22563855	0	5	CTA-221G9.12	
ENSG00000006459	1,00029861	0	5	KDM7A	desmetilasa 7A específica de lisina (K) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 22224]
ENSG00000171408	3,15161753	0	5	PDE7B	fosfodiesterasa 7B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8792]
ENSG00000162981	1,53241836	0	5	FAM84A	familia con similitud de secuencia 84, miembro A [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20743]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000118946	1,93243268	0	5	PCDH17	protocadherina 17 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14267]
ENSG00000146376	1,27126839	0	5	ARHGAP18	proteína 18 activadora de GTPasa Rho [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 21035]
ENSG00000204086	2,05144911	0	5	RPA4	proteína de replicación A4, 30 kDa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30305]
ENSG00000221887	1,05893107	0	5	HMSD	que contiene dominio serpina de histocompatibilidad (menor) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23037]
ENSG00000196196	1,26354255	0	5	HRCT1	extremo carboxilo 1 rico en histidina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33872]
ENSG00000172548	2,84971177	0	5	NIPAL4	4 que contiene dominio similar a NIPA [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28018]
ENSG00000156804	2,04515428	0	5	FBXO32	proteína 32 de caja F [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16731]
ENSG00000203684	1,5984677	0	5	IBA57-AS1	ARN 1 antisentido de IBA57 (de cabeza a cabeza) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 32062]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000205502	1,63750711	0	5	C2CD4B	4B que contiene dominio dependiente de calcio C2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33628]
ENSG00000163734	1,26141193	0	5	CXCL3	ligando 3 de quimiocina (motivo C-X-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4604]
ENSG00000181444	1,48713949	0	5	ZNF467	proteína 467 de dedos de cinc [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23154]
ENSG00000275342	1,45192287	0	5	SGK223	Tirosina-proteína cinasa SgK223 [Fuente: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: Q86YV5]
ENSG00000214944	1,43116765	0	5	ARHGEF28	Factor (GEF) 28 de intercambio de nucleótidos de guanina Rho [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30322]
ENSG00000198795	1,37664308	0	5	ZNF521	proteína 521 de dedos de cinc [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 24605]
ENSG00000108932	1,95156031	0	5	SLC16A6	familia 16 de portadores de solutos, miembro 6 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10927]
ENSG00000145990	1,18764084	0	5	GFOD1	1 que contiene dominio glucosa-fructosa óxido-reductasa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 21096]

(continuación)

Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica: 1 = expresión aumentada con ambos inhibidores 5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580 2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580 6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580 3 = expresión disminuida con ambos inhibidores 7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580 4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580 8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000179546	1,7287987	0	5	HTR1D	receptor 1D de 5-hidroxitriptamina (serotonina), acoplado a proteína G [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5289]
ENSG00000186472	1,73331066	0	5	PCLO	proteína piccolo de matriz citoplasmática presináptica [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 13406]
ENSG00000138678	1,55650245	0	5	AGPAT9	1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa 9 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28157]
ENSG00000225814	1,57236046	0	5	GRPEL2P2	2 similar a GrpE, pseudogén 2 mitocondrial (<i>E. coli</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 41970]
ENSG00000172572	1,01708765	0	5	PDE3A	fosfodiesterasa 3A, inhibida por cGMP [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8778]
ENSG00000107282	1,0986938	0	5	APBA1	unión a la proteína precursora de beta amiloide (A4), familia A, miembro 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 578]
ENSG00000171877	1,0590391	0	5	FRMD5	5 que contiene dominio FERM [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28214]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000151623	1,83557493	0	5	NR3C2	subfamilia de receptores nucleares 3, grupo C, miembro 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7979]
ENSG00000189184	1,39874706	0	5	PCDH18	protocadherina 18 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14268]
ENSG00000187479	1,56424224	0	5	C11orf96	marco de lectura abierto 96 del cromosoma 11 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 38675]
ENSG00000178726	1,31386114	0	5	THBD	trombomodulina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11784]
ENSG00000137193	2,05607477	0	5	PIM1	protooncogén de Pim-1, serina/treonina cinasa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8986]
ENSG00000154734	1,08386589	0	5	ADAMTS1	metalopéptidasa ADAM con motivo de tipo 1 de trombospondina, 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 217]
ENSG00000143772	1,05692317	0	5	ITPKB	inositol-trifosfato 3-cinasa B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6179]
ENSG00000140022	1,42852098	0	5	STON2	estonina 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30652]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000181722	1,75771309	0	5	ZBTB20	20 que contiene dominio BTB y dedos de cinc [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 13503]
ENSG00000184058	2,32518737	0	5	TBX1	caja T 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11592]
ENSG00000043591	1,38727807	0	5	ADRB1	receptor adrenérgico beta 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 285]
ENSG00000126550	2,94676056	0	5	HTN1	histatina 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5283]
ENSG00000143867	1,2361215	0	5	OSR1	factor de transcripción 1 relacionado con salto impar [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8111]
ENSG00000116833	1,34604824	0	5	NR5A2	subfamilia de receptores nucleares 5, grupo A, miembro 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7984]
ENSG00000166292	2,00173044	0	5	TMEM100	proteína transmembrana 100 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25607]
ENSG00000188487	1,04413181	0	5	INSC	homólogo insustituible (<i>Drosophila</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33116]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000176697	1,76616859	0	5	BDNF	factor neurotrófico derivado del cerebro [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1033]
ENSG00000079102	1,5770273	0	5	RUNX1T1	factor de transcripción relacionado con runt 1; translocado a, 1 (relacionado con ciclina D) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1535]
ENSG00000162599	1,02633907	0	5	NFIA	factor nuclear I/A [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7784]
ENSG00000188763	1,52543754	0	5	FZD9	receptor 9 de clase frizzled [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4047]
ENSG00000154639	1,36734426	0	5	CXADR	receptor de virus coxsackie y adenovirus [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2559]
ENSG00000227946	1,24976159	0	5	AC007383.3	
ENSG00000143341	1,16130281	0	5	HMCN1	hemicentina 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19194]
ENSG00000237892	1,07996952	0	5	KLF7-IT1	transcrito 1 intrónico de KLF7 (no codificante de proteínas) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 41355]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000103522	1,30364536	0	5	IL21R	receptor de interleucina 21 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6006]
ENSG00000162630	1,457488	0	5	B3GALT2	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,3- galactosiltransferasa, polipéptido 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 917]
ENSG00000106069	1,15244395	0	5	CHN2	quimerina 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1944]
ENSG00000169047	1,03338349	0	5	IRS1	sustrato 1 del receptor de insulina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6125]
ENSG00000226476	1,25685284	0	5	RP11-776H12.1	
ENSG00000181016	1,30372056	0	5	LSMEM1	proteína 1 de membrana de paso único rica en leucina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 22036]
ENSG00000121966	3,89708969	0	5	CXCR4	receptor 4 de quimiocina (motivo C-X-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2561]
ENSG00000189143	1,4778446	0	5	CLDN4	claudina 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2046]
ENSG00000257642	2,54048396	0	5	RP11-474B16.1	
ENSG00000250271	2,3827306	0	5	RP11-64D22.5	
ENSG00000188483	1,76997593	0	5	IER5L	similar a 5 de respuesta temprana inmediata [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23679]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000183775	1,04020782	0	5	KCTD16	16 que contiene dominio de tetramerización de canales de potasio [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29244]
ENSG00000107984	1,55122779	0	5	DKK1	inhibidor 1 de la vía de señalización dickkopf WNT [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2891]
ENSG00000174514	0	1,18746783	6	MFSD4	4 que contiene dominio de superfamilia facilitador principal [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25433]
ENSG00000270379	0	1,09045988	6	HEATR9	9 que contiene repetición HEAT [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26548]
ENSG00000240859	0	1,36188025	6	AC093627.10	
ENSG00000236671	0	1,65509644	6	PRKG1-AS1	ARN 1 antisentido de PRKG1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 45029]
ENSG00000261707	0	1,15736629	6	RP11-264M12.2	
ENSG00000273669	0	3,69876021	6	RP11-405M12.4	
ENSG00000231345	0	1,35868618	6	BEND3P1	pseudogén 1 de 3 que contiene dominio BEN [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 45014]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000134253	0	1,10224143	6	TRIM45	45 que contiene motivo tripartito [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19018]
ENSG00000138336	0	1,76426632	6	TET1	metilcitosina dioxigenasa 1 tet [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29484]
ENSG00000120162	0	1,23378866	6	MOB3B	activador 3B de cinasa MOB [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23825]
ENSG00000171860	0	1,01814888	6	C3AR1	receptor 1 del componente del complemento 3 a [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1319]
ENSG00000167676	0	1,03160807	6	PLIN4	perilipina 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29393]
ENSG00000237234	0	1,66084244	6	RP1-142L7.5	
ENSG00000164124	0	1,05381028	6	TMEM144	proteína transmembrana 144 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25633]
ENSG00000118513	0	1,12982301	6	MYB	homólogo de oncogén vírico de mieloblastosis aviar v-myb [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7545]
ENSG00000091137	0	1,16699806	6	SLC26A4	familia 26 de portadores de solutos (intercambiador de aniones), miembro 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8818]
ENSG00000198483	0	1,43532228	6	ANKRD35	dominio 35 de repetición de anquirina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26323]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000237886	0	1,57281997	6	LINC01573	ARN 1573 largo intergénico no codificante de proteínas [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 51192]
ENSG00000174004	0	2,27602232	6	NRROS	regulador negativo de especies reactivas de oxígeno [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 24613]
ENSG00000185634	0	1,66433678	6	SHC4	familia SHC (que contiene dominio de homología 2 Src), miembro 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16743]
ENSG00000259886	0	1,17666464	6		
ENSG00000145358	0	1,32550219	6	DDIT4L	similar a transcrito 4 inducible por daño de ADN [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30555]
ENSG00000269896	0	1,28838255	6	RP4-740C4.5	
ENSG00000135828	0	1,0837094	6	RNASEL	ribonucleasa L (dependiente de 2',5'-oligoisoadenilato sintetasa) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10050]
ENSG00000259162	0	1,52667158	6	RP11-203M5.6	
ENSG00000279109	-3,3403535	0	7	AC008641.1	proteína sin caracterizar {ECO:0000313 Ensembl:ES SP00000485568} [Fuente: UniProtKB/TrEMBL; Acc: A0A096LPF4]
ENSG00000152778	-1,0972226	0	7	IFIT5	proteína inducida por interferón con repeticiones de tetratricopéptido 5 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 13328]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000128284	-1,3050716	0	7	APOL3	apolipoproteína L, 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14868]
ENSG00000213886	-4,0396114	0	7	UBD	ubiquitina D [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18795]
ENSG00000164116	-1,5223055	0	7	GUCY1A3	guanilato ciclasa 1, soluble, alfa 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4685]
ENSG00000137462	-1,0020489	0	7	TLR2	receptor 2 similar a toll [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11848]
ENSG00000049249	-2,1008906	0	7	TNFRSF9	superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, miembro 9 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11924]
ENSG00000169181	-2,095598	0	7	GSG1L	similar a GSGI [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28283]
ENSG00000162888	-1,7912286	0	7	C1orf147	marco de lectura abierto 147 del cromosoma 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 32061]
ENSG00000107201	-1,2413536	0	7	DDX58	polipéptido 58 de caja DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19102]
ENSG00000179826	-2,5133806	0	7	MRGPRX3	GPR relacionado con MAS, miembro X3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17980]
ENSG00000132109	-1,2867007	0	7	TRIM21	21 que contiene motivo tripartito [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11312]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000215007	-1,0078729	0	7	DNAJA1P3	pseudogén 3 del homólogo de DnaJ (Hsp40), subfamilia A, miembro 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 39339]
ENSG00000204682	-1,1628447	0	7	CASC10	candidato 10 de susceptibilidad al cáncer [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 31448]
ENSG00000108688	-1,8703428	0	7	CCL7	ligando 7 de quimiocina (motivo C-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10634]
ENSG00000112096	-1,0730214	0	7	SOD2	superóxido dismutasa 2, mitocondrial [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11180]
ENSG0000010379	-2,697306	0	7	SLC6A13	familia 6 de portadores de solutos (transportador de neurotransmisores), miembro 13 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11046]
ENSG00000169403	-1,579388	0	7	PTAFR	receptor del factor activador de plaquetas [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 9582]
ENSG00000115604	-3,2590591	0	7	IL18R1	receptor 1 de interleucina 18 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5988]
ENSG00000133401	-1,024655	0	7	PDZD2	2 que contiene dominio PDZ [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18486]
ENSG00000095587	-2,2510173	0	7	TLL2	2 similar a tolloid [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11844]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000134256	-1,3577477	0	7	CD101	molécula CD101 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5949]
ENSG00000272463	-1,1413394	0	7	RP11-532F6.3	
ENSG00000102794	-1,5942464	0	7	IRG1	homólogo de inmunorespondedor 1 (ratón) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33904]
ENSG00000223799	-1,6341444	0	7	IL10RB-AS1	ARN 1 antisentido de IL10RB (de cabeza a cabeza) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 44303]
ENSG00000019582	-1,1055825	0	7	CD74	Molécula CD74, complejo principal de histocompatibilidad, cadena invariante de clase II [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1697]
ENSG00000121577	-1,2357302	0	7	POPDC2	2 que contiene dominio popeye [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17648]
ENSG00000215268	-1,7373145	0	7	LA16c-60G3.8	
ENSG00000119121	-1,4785767	0	7	TRPM6	receptor potencial transitorio del canal de cationes, subfamilia M, miembro 6 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17995]
ENSG00000108576	-1,2299055	0	7	SLC6A4	familia 6 de portadores de solutos (transportador de neurotransmisores), miembro 4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11050]
ENSG00000274818	-1,8854991	0	7	RP1-292L20.3	

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000198133	-1,9389698	0	7	TMEM229B	proteína transmembrana 229B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20130]
ENSG00000130477	-1,2541053	0	7	UNC13A	homólogo A de unc-13 (<i>C. elegans</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23150]
ENSG00000266094	-1,0579637	0	7	RASSF5	miembro 5 de la familia del dominio de asociación a Ras (RalGDS/AF-6) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17609]
ENSG00000137571	-1,0904993	0	7	SLCO5A1	familia de transportadores de aniones orgánicos portadores de solutos, miembro 5A1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19046]
ENSG00000272512	-1,5915514	0	7	RP11-5407.17	
ENSG00000124391	-1,7278326	0	7	IL17C	interleucina 17C [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5983]
ENSG00000136052	-1,3272223	0	7	SLC41A2	familia 41 de portadores de solutos (transportador de magnesio), miembro 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 31045]
ENSG00000185245	-1,9464332	0	7	GP1BA	glucoproteína Ib (plaquetas), polipéptido alfa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4439]
ENSG00000203685	-1,8061183	0	7	C1orf95	marco de lectura abierto 95 del cromosoma 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30491]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000149654	-1,331613	0	7	CDH22	cadherina 22, tipo 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 13251]
ENSG00000230943	-1,574129	0	7	RP11-367G18.1	
ENSG00000215277	-3,2333936	0	7	RNF212B	proteína 212B de dedo anular [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20438]
ENSG00000112139	-1,2861961	0	7	MDGA1	ancla 1 de dominio MAM que contiene glicosilfosfatidilinositol [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19267]
ENSG00000143494	-1,5135205	0	7	VASH2	vasohibina 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25723]
ENSG00000151883	-1,1760751	0	7	PARP8	familia de las poli(ADP-ribosa) polimerasa, miembro 8 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26124]
ENSG00000136514	-1,9750242	0	7	RTP4	proteína 4 transportadora de receptor (quimiosensible) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23992]
ENSG00000106258	-1,012592	0	7	CYP3A5	citocromo P450, familia 3, subfamilia A, polipéptido 5 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2638]
ENSG00000243649	-2,5551714	0	7	CFB	factor B del complemento [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1037]
ENSG00000164342	-1,0290951	0	7	TLR3	receptor 3 similar a toll [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11849]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000115956	-2,3479537	0	7	PLEK	pleckstrina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 9070]
ENSG00000144476	-1,7184658	0	7	ACKR3	receptor 3 de quimiocina atípico [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 23692]
ENSG00000157601	-1,4173764	0	7	MX1	GTPasa 1 similar a dinamina MX [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7532]
ENSG00000177409	-1,1465499	0	7	SAMD9L	similar a 9 que contiene dominio de motivo alfa estéril [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1349]
ENSG00000119917	-1,8565474	0	7	IFIT3	proteína inducida por interferón con repeticiones de tetratricopéptido 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5411]
ENSG00000271503	-1,7683442	0	7	CCL5	ligando 5 de quimiocina (motivo C-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10632]
ENSG00000117226	-1,1447048	0	7	GBP3	proteína 3 de unión a guanilato [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4184]
ENSG00000163840	-1,3311379	0	7	DTX3L	similar a deltex 3, ubiquitina ligasa E3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30323]
ENSG00000010030	-1,2207673	0	7	ETV7	variante 7 de ets [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18160]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000261884	-1,3310986	0	7	CTC-479C5.12	proteína sin caracterizar {ECO:0000313 Ensembl:ES SP00000463376} [Fuente: UniProtKB/TrEMBL; Acc: J3QL48]
ENSG00000152229	-1,0179291	0	7	PSTPIP2	proteína 2 de interacción con prolina-serina-treonina fosfatasa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 9581]
ENSG00000100678	-2,0514071	0	7	SLC8A3	familia 8 de portadores de solutos (intercambiador de sodio/calcio), miembro 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11070]
ENSG00000225194	-2,4201688	0	7	LINC00092	ARN 92 largo intergénico no codificante de proteínas [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 31408]
ENSG00000140968	-1,1898419	0	7	IRF8	factor 8 regulador de interferón [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5358]
ENSG00000006210	-1,2182721	0	7	CX3CL1	ligando 1 de quimiocina (motivo C-X3-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10647]
ENSG00000221963	-1,1392138	0	7	APOL6	apolipoproteína L, 6 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14870]
ENSG00000130589	-1,0673283	0	7	HELZ2	helicasa con dedo de cinc 2, coactivador transcriptional [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30021]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000239713	-1,6622438	0	7	APOBEC3G	enzima de modificación del ARNm de la apolipoproteína B, 3G similar a polipéptido catalítico [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17357]
ENSG00000151023	-1,0139189	0	7	ENKUR	enkurina, proteína de interacción con canal de TRPC [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28388]
ENSG00000187123	-1,3193979	0	7	LYPD6	6 que contiene dominio LY6/PLAUR [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28751]
ENSG00000253831	-3,0507137	0	7	ETV3L	similar a variante 3 de ets [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33834]
ENSG00000246130	-3,0351799	0	7	RP11-875O11.2	
ENSG00000128335	-1,8122079	0	7	APOL2	apolipoproteína L, 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 619]
ENSG00000108702	-4,9466198	0	7	CCL1	ligando 1 de quimiocina (motivo C-C) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 10609]
ENSG00000105963	-1,2049889	0	7	ADAP1	ArfGAP con dominios 1 PH duales [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16486]
ENSG00000170075	-1,4491156	0	7	GPR37L1	1 similar al receptor 37 acoplado con proteína G [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14923]
ENSG00000267607	-1,2021234	0	7	CTD-2369P2.8	

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000142961	-1,1266143	0	7	MOB3C	activador 3C de cinasa MOB [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29800]
ENSG00000159200	-1,1629133	0	7	RCAN1	regulador de calcineurina 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3040]
ENSG00000185291	-1,5031919	0	7	IL3RA	receptor de interleucina 3, alfa (afinidad baja) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6012]
ENSG00000135917	-1,3131434	0	7	SLC19A3	familia 19 de portadores de solutos (transportador de oligopéptidos), miembro 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16266]
ENSG00000179817	-1,7239398	0	7	MRGPRX4	GPR relacionado con MAS, miembro X4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17617]
ENSG00000173918	-1,1809051	0	7	C1QTNF1	proteína 1 relacionada con C1q y factor de necrosis tumoral [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14324]
ENSG00000198879	-1,3578392	0	7	SFMBT2	similar a Scm con cuatro dominios mbt 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20256]
ENSG00000272078	-1,1495108	0	7	RP4-734G22.3	
ENSG00000269794	-1,7476941	0	7	AC010642.2	
ENSG00000115919	-1,2162129	0	7	KYNU	quinureninasa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 6469]
ENSG00000255521	-1,8970116	0	7	RP4-607I7.1	

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000173193	-1,3401257	0	7	PARP14	familia de las poli(ADP-ribosa) polimerasa, miembro 14 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 29232]
ENSG00000183644	-1,6099016	0	7	C11orf88	marco de lectura abierto 88 del cromosoma 11 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25061]
ENSG00000253522	-1,2658724	0	7	CTC-231O11.1	
ENSG00000236453	-1,8969845	0	7	AC003092.1	
ENSG00000131979	-1,5762138	0	7	GCH1	GTP ciclohidrolasa 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4193]
ENSG00000069493	-2,1742062	0	7	CLEC2D	familia 2 del dominio de lectina de tipo C, miembro D [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14351]
ENSG00000069696	-1,1323561	0	7	DRD4	receptor de dopamina D4 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3025]
ENSG00000175356	-1,3984803	0	7	SCUBE2	péptido señal, dominio CUB, 2 similar a EGF [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30425]
ENSG00000128165	-1,1779326	0	7	ADM2	adrenomedulina 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 28898]
ENSG00000166856	-1,1992337	0	7	GPR182	receptor 182 acoplado a proteína G [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 13708]
ENSG00000199161	-1,616849	0	7	MIR126	microARN 126 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 31508]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000050730	-1,9873165	0	7	TNIP3	proteína 3 de interacción con TNFAIP3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 19315]
ENSG00000255750	-1,8909724	0	7	RP11-283G6.5	
ENSG00000184530	-2,3505853	0	7	C6orf58	marco de lectura abierto 58 del cromosoma 6 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20960]
ENSG00000104883	-1,3860147	0	7	PEX11G	factor 11 gamma de biogénesis peroxisómica [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 20208]
ENSG00000129521	-2,7016498	0	7	EGLN3	factor 3 inducible por hipoxia de la familia egl-9 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14661]
ENSG00000204482	-1,2475769	0	7	LST1	transcrito 1 específico de leucocitos [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14189]
ENSG00000115267	-1,3445539	0	7	IFIH1	interferón inducido con dominio 1 de helicasa C [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18873]
ENSG00000162692	-2,1801821	0	7	VCAM1	molécula 1 de adhesión celular vascular [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 12663]
ENSG00000261618	-1,2864344	0	7	RP11-79H23.3	
ENSG00000101276	-1,1705916	0	7	SLC52A3	familia 52 de portadores de solutos (transportador de oligopéptidos), miembro 3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 16187]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000064309	-1,4651234	0	7	CDON	asociado a adhesión celular, regulado por oncogén [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17104]
ENSG00000167371	-1,4282411	0	7	PRRT2	proteína transmembrana 2 rica en prolina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 30500]
ENSG00000101017	-1,5583663	0	7	CD40	molécula CD40, miembro 5 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11919]
ENSG00000164400	0	-1,63408281	8	CSF2	factor 2 estimulante de colonias (granulocitos-macrófagos) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 2434]
ENSG00000172602	0	-1,15027449	8	RND1	GTPasa 1 de la familia Rho [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18314]
ENSG00000174502	0	-2,09273487	8	SLC26A9	familia 26 de portadores de solutos (intercambiador de aniones), miembro 9 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 14469]
ENSG00000234290	0	-1,00067832	8	AC116366.6	
ENSG00000170961	0	-2,64619793	8	HAS2	hialuronano sintasa 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4819]
ENSG00000110848	0	-1,46706866	8	CD69	molécula CD69 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1694]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
	Log (base 2) de factor de cambio				
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000164512	0	-1,20441285	8	ANKRD55	dominio 55 de repetición de anquirina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 25681]
ENSG00000167034	0	-1,10541745	8	NKX3-1	homeobox 1 de NK3 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 7838]
ENSG00000105246	0	-1,39394774	8	EBI3	3 inducido por el virus de Epstein-Barr [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3129]
ENSG00000145506	0	-1,41815829	8	NKD2	homólogo 2 de cutícula desnuda (<i>Drosophila</i>) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 17046]
ENSG00000127533	0	-2,64266235	8	F2RL3	3 similar al receptor del factor II de coagulación (trombina) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 3540]
ENSG00000115008	0	-2,15272028	8	IL1A	interleucina 1, alfa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5991]
ENSG00000073282	0	-1,31215479	8	TP63	proteína tumoral p63 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 15979]
ENSG00000113196	0	-1,61798433	8	HAND1	1 expresado por derivados del corazón y la cresta neural [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 4807]
ENSG00000096996	0	-1,40936482	8	IL12RB1	receptor de interleucina 12, beta 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5971]
ENSG00000275582	0	-1,05575947	8	RP4-681N20.5	

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000244476	0	-1,23492596	8	ERVFRD-1	FRD de grupo de retrovirus endógenos, miembro 1 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33823]
ENSG00000165685	0	-1,10987961	8	TMEM52B	proteína transmembrana 52B [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26438]
ENSG00000172331	0	-1,20450079	8	BPGM	2,3-bisfosfoglicerato mutasa [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1093]
ENSG00000198846	0	-1,42254609	8	TOX	caja de grupos de alta movilidad asociada a la selección timocitos [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 18988]
ENSG00000258521	0	-1,0229865	8	RP11-638I2.9	
ENSG00000279133	0	-1,46999903	8	RP11-342K2.1	
ENSG00000121905	0	-2,21994573	8	HPCA	hipocalcina [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 5144]
ENSG00000232810	0	-1,4782116	8	TNF	factor de necrosis tumoral [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 11892]
ENSG00000178882	0	-1,71201963	8	FAM101A	familia con similitud de secuencia 101, miembro A [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 27051]
ENSG00000173391	0	-1,01327133	8	OLR1	receptor 1 de lipoproteína oxidada de baja densidad (similar a la lectina) [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 8133]

(continuación)

<p>Lista de genes modificados por SB203580 o UM101 (véase también la FIG. 5); El número de bin se refiere al patrón de respuesta de la expresión génica:</p> <p>1 = expresión aumentada con ambos inhibidores</p> <p>5 = aumentada con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>2 = reducida con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>6 = sin cambios con UM101, aumentada con SB203580</p> <p>3 = expresión disminuida con ambos inhibidores</p> <p>7 = reducida con UM101, sin cambios con SB203580</p> <p>4 = aumentada con UM101, disminuida con SB203580</p> <p>8 = sin cambios con UM101, disminuida con SB203580</p>					
Log (base 2) de factor de cambio					
Gen	UM101 frente a control	SB203580 frente a control	bin	Símbolo del gen	Nombre del gen
ENSG00000257671	0	-1,03664909	8	RP3-416H24.1	
ENSG00000269826	0	-1,64046441	8	RP11-158I3.3	
ENSG00000176907	0	-1,2182476	8	C8orf4	marco de lectura abierto 4 del cromosoma 8 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 1357]
ENSG00000165478	0	-1,21164831	8	HEPACAM	molécula de adhesión de células hepáticas y gliales [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 26361]
ENSG00000175746	0	-1,57742953	8	C15orf54	marco de lectura abierto 54 del cromosoma 15 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 33797]
ENSG00000187848	0	-2,24446361	8	P2RX2	receptor purinérgico P2X, canal iónico activado por ligando, 2 [Fuente: Símbolo del HGNC; Acc: HGNC: 15459]

SB203580 inhibió la expresión de 61 genes inducidos por TNF α , 28 de los cuales también fueron inhibidos por UM101 (Tabla 6, Tabla 5, FIG. 5). SB203580 aumentó la expresión de 38 genes, 10 de los cuales también aumentaron por UM101. De los 28 genes inhibidos tanto por SB203580 como por UM101, 22 codificaban proteínas conocidas, incluyendo IL-1B, CCL17, MMP9, IDO1, CXCL5, 10 y 11, hialuronano sintasa-3, MUC4 y PLA2 (Tabla 6). De los 33 genes inhibidos por SB203580 pero no por UM101, 24 codificaban proteínas conocidas, incluyendo GM-CSF, IL-1 α , TNF α , receptor- β 1 de IL-12 y hialuronano sintasa-2 (Tabla 6).

Tabla 6: Efecto de SB203580 y UM101 en HMVECL sobre genes inducidos por TNF α ¹

Símbolo del gen	Nombre del gen	LOG de factor de cambio de SB203580 frente a DMSO	LOG de factor de cambio de UM101 frente a DMSO
Genes inhibidos tanto por SB203580 como por UM101			
PRRG4	Gla 4 rico en prolina	-1,782580534	-1,198488233
TSLP	linfopoyetina del estroma tímico	-1,651439594	-1,336652511
CCL17	ligando 17 de quimiocina (motivo C-C)	-1,834143455	-2,730309773
EXOC3L4	4 similar a 3 del componente del complejo exoquístico	-1,479163179	-1,160471021
MMP9	metaloproteinasa de matriz 9	-1,157091348	-1,091179627
IDO1	indolamina 2,3-dioxigenasa 1	-3,510632932	-3,567987354
CXCL10	ligando 10 de quimiocina (motivo C-X-C)	-3,100915562	-4,369836708

(continuación)

Símbolo del gen	Nombre del gen	LOG de factor de cambio de SB203580 frente a DMSO	LOG de factor de cambio de UM101 frente a DMSO
Genes inhibidos tanto por SB203580 como por UM101			
CD200	CD200	-1,729285649	-1,538155406
SLC15A3	familia 15 de portadores de solutos, miembro 3	-1,00338842	-1,73105887
VDR	receptor de vitamina D	-1,16718631	-1,19731694
IL1B	Interleucina-1 β	-1,401586926	-1,172530543
GPR88	Receptor 88 acoplado a proteína G	-1,397083754	-2,150599176
CD207	CD207 (langerina)	-1,547757288	-3,382437255
TCHH	trichialina	-1,504958085	-1,547665316
HAS3	hialuronano sintasa 3	-1,43377734	-1,124339564
GBP1P1	proteína 1 de unión a guanilato	-1,363287203	-1,755706078
MUC4	Mucina-4	-2,859491876	-1,057315692
ELOVL7	elongasa 7 de ácidos grasos ELOVL	-1,340933369	-1,381063226
CXCL11	ligando 11 de quimiocina (motivo C-X-C)	-1,377905942	-4,136354868
GBP4	proteína 4 de unión a guanilato	-1,259283076	-2,835947907
PLA1A	miembro A de fosfolipasa A1	-1,27452433	-1,500633356
CXCL5	ligando 5 de quimiocina (motivo C-X-C)	-1,017427849	-1,468307731
Genes inhibidos por SB203580 pero no por UM101			
CSF2	GM-CSF	-1,634082807	ns ²
RND1	GTPasa 1 de la familia Rho	-1,15027449	ns
SLC26A9	familia 26 de portadores de solutos, miembro 9	-2,092734866	ns
HAS2	hialuronano sintasa 2	-2,646197932	ns
CD69	CD69	-1,467068659	ns
ANKRD55	dominio de repetición de anquirina 55	-1,204412851	ns
NKX3-1	caja homeótica 1 de NK3	-1,105417452	ns
EBI3	3 inducido por el virus de Epstein-Barr	-1,393947741	ns
NKD2	homólogo 2 de cutícula desnuda	-1,418158287	ns
F2RL3	3 similar al receptor del factor de coagulación II	-2,642662346	ns
IL1A	Interleucina-1 alfa	-2,152720278	ns
TP63	Proteína tumoral 63	-1,312154792	ns
HAND1	1 expresado por derivados del corazón y la cresta neural	-1,617984328	ns
IL12RB1	receptor de interleucina 12, beta 1	-1,409364824	ns
ERVFRD-1	FRD de grupo de retrovirus endógenos, miembro 1	-1,234925956	ns
TMEM52B	proteína transmembrana 52B	-1,109879612	ns
BPGM	2,3-bisfosfoglicerato mutasa	-1,204500786	ns
TOX	caja de grupos de alta movilidad asociada a la selección timocitos	-1,422546092	ns
HPCA	hipocalcina	-2,219945733	ns
TNF	Factor de necrosis tumoral alfa	-1,478211598	ns
FAM101A	familia con similitud de secuencia 101, miembro A	-1,712019627	ns
OLR1	receptor 1 de lipoproteínas de baja densidad oxidadas	-1,013271327	ns
HEPACAM	molécula de adhesión de células hepáticas y gliales	-1,211648309	ns
P2RX2	receptor purinérgico P2X	-2,244463614	ns

¹ Las HMVECL se preincubaron con DMSO al 0,4 %, SB20350 10 μ M o UM101 100 μ M durante 1 h, después se estimularon con TNF α 10 ng/ml durante 4 h y se realizó RNASeq.

² no significativo

Los genes expresados diferencialmente se analizaron posteriormente usando las herramientas PathwayNet e Ingenuity™ para identificar los factores de transcripción y las vías biológicas reguladas por los dos inhibidores. El análisis por PathwayNet sugirió que UM101 inhibe algunos de los factores de transcripción inhibidos por SB203580 (Stat-1, c-Fos, c-Jun, NFκB, p53, PPARγ y Sp1), pero no otros (ATF1, ATF2, Elk1, c/EBPβ, USF1, SMAD3, FOXO1 y CREB a través de MSK1/2). El análisis por Ingenuity™ sugirió que tanto SB203580 como UM101 inhiben la Maduración de Células Dendríticas, Receptor desencadenante expresado en células mieloides-1 (TREM1), la Caja 1 del grupo de alta movilidad (HMGB1) y las vías de NFκB y ambos aumentan la activación del receptor X hepático/receptor X retinoide (LXR/RXR), mientras que sólo SB203580 inhibe IL-6, Fase Aguda y las vías mediadas por Colecistocinina/Gastrina (FIG. 3A). UM101 a 100 μM redujo la expresión de 115 genes y aumentó la expresión de 119 genes que no fueron modificados por SB203580 (Tabla 5), que el análisis de vías Ingenuity™ sugirió como una reducción de la señalización de receptores de tipo Toll y Wnt/β-catenina y un aumento de las vías de Óxido Nítrico en Enfermedades Cardiovasculares (FIG. 3B).

Ejemplo de referencia 6: Comparación de los efectos de SB203580 y UM101 sobre el perfil de fosforilación del sustrato de MAPK p38

Para evaluar si UM101 inhibe selectivamente la fosforilación coherente con su diana, se pretrataron células HeLa durante 30 min con SB203580 10 μM, UM101 50 μM o con un control de vehículo de DMSO al 0,1 %, después, con el activador p38, anisomicina (25 μg/ml) y MK2 fosforilada y Stat-1 se analizaron mediante inmunotransferencia (FIG. 3C). La fosforilación de MK2 y Stat-1 estimulada por la anisomicina se redujo tanto con SB203580 10 μM como con UM101 50 μM, pero más aún con SB203580.

Ejemplo de referencia 7: Análisis de unión específica de UM101 a p38α

Se usó DSF para analizar la unión específica de concentración de UM101 a p38α y p38B. Mientras que SB203580 estabilizó tanto p38α como p38β, UM101 sólo estabilizó p38α (FIG. 3D). Para confirmar que UM101 se unió al bolsillo diana de CADD, Se usó DSF para comparar la unión de UM101 y SB203580 a p38α de tipo silvestre y a un mutante de p38α con cuatro de los diez aminoácidos del bolsillo diana (R49K/HL107-8TF/K165R) sustituidos (FIG. 3E). El mutante presentaba una unión a SB203580 idéntica a la de p38α de tipo silvestre, pero no a UM101.

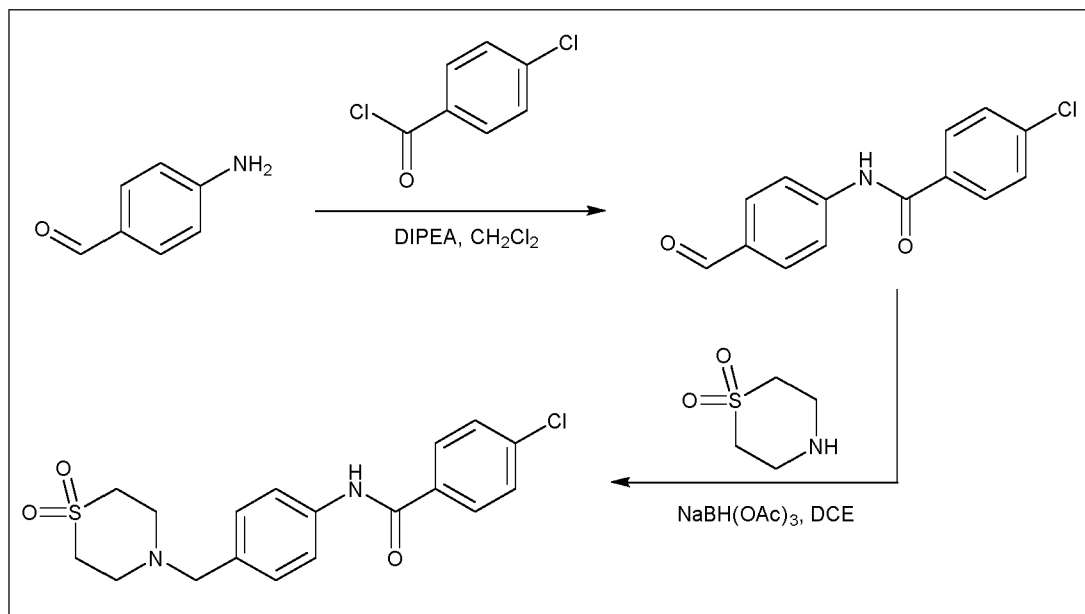
La unión selectiva de UM101 al bolsillo diana de CADD en p38α se confirmó usando Diferencia de transferencia de saturación (STD)-RMN. En la FIG. 3F se muestra un espectro de 1D de UM101 en presencia de p38α y en la FIG. 3G el espectro de STD de la misma muestra. Los picos en el espectro de 1D están etiquetados de acuerdo con las asignaciones tentativas de picos de UM101 en forma acuosa, basándose en asignaciones de UM101 en d6-DMSO 2 mM, que se obtuvieron a partir del uso de experimentos 1D de protones y C13 y 2D-HMBC. Los desplazamientos de los picos en el espectro de STD se corresponden bien con los del espectro de 1D, indicando de este modo que los protones de ambos anillos aromáticos de UM101 interactúan con p38α. En cambio, mientras que los espectros 1D para UM101 con p38β y p38α mutado fueron similares a los de UM101/p38α (FIG. 3H y FIG. 3I), la interacción de UM101 con p38β y p38α mutado es mucho más débil, como indican los picos apenas perceptibles de los protones aromáticos en el espectro de STD de UM101 con p38β (FIG. 3J) y p38α mutada (FIG. 3K).

Ejemplo de referencia 8: Métodos de síntesis para preparar UM101

Métodos generales para la química: Todas las reacciones sensibles al aire o la humedad se realizaron a presión positiva de nitrógeno con material de vidrio secado al horno. Los reactivos químicos y los disolventes anhidros se obtienen de fuentes comerciales y se usan tal cual.

Los inhibidores de MAPK p38α de la invención pueden prepararse mediante métodos generalmente conocidos en la técnica. Por ejemplo, el compuesto UM101 puede prepararse como se representa en el Esquema 1. UM101 puede prepararse en dos etapas a partir de tres fragmentos disponibles en el mercado (Esquema 1), lo que facilita su optimización. La acilación de 4-aminobenzaldehído con cloruro de 4-clorobenzilo en presencia de diisopropilamina (DIPEA) genera un aldehído intermedio. La posterior aminación reductora del aldehído con 1,1-dióxido de tiomorfolina y triacetoxiborohidruro de Na (NaBH(OAc)₃) produce UM101.

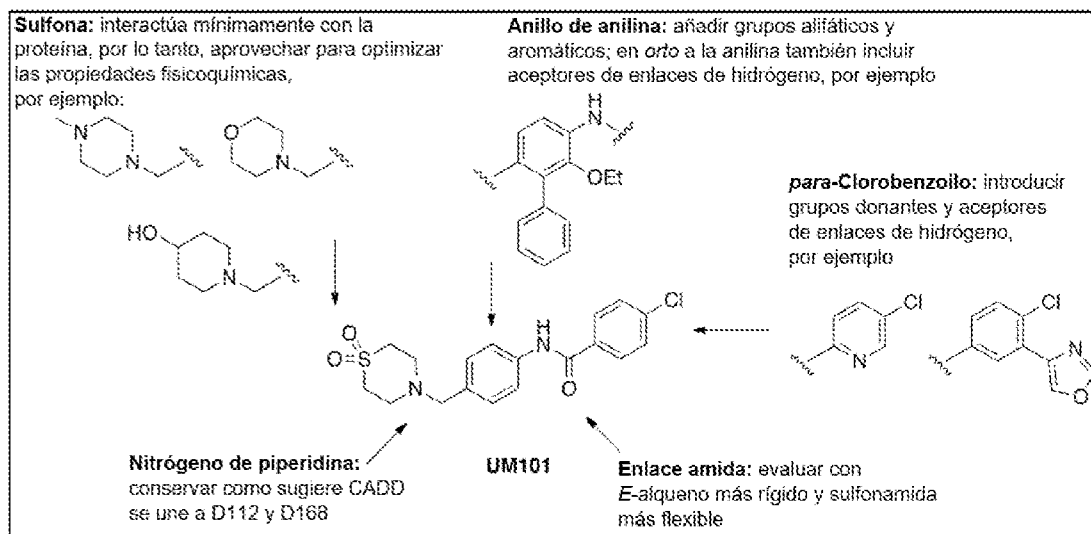
Esquema 1



- 5 Se realiza una relación estructura-actividad (SAR) focalizada de UM101 y compuestos líderes adicionales para determinar su farmacóforo y la información utilizada para lograr su optimización, por ejemplo, introduciendo esta información en el modelo CADD para mejorar su previsibilidad y facilitar de este modo los ciclos de diseño posteriores. En el Esquema 2 se muestra un resumen de las modificaciones propuestas para UM101, que se basan en la modelización molecular por SILCS y aborda mejoras de la afinidad y especificidad de unión, así como potenciaciones de las propiedades fisicoquímicas. De forma importante, el análisis por STD-RMN de UM101 confirmó que sus dos anillos aromáticos interactúan con la proteína, por lo tanto, la modificación de estos anillos afectará a las afinidades de unión. En primer lugar, ya que se prevé que el nitrógeno de tipo piperidina con carga positiva (en condiciones fisiológicas) de UM101 interactúe con restos con carga negativa tales como D112 y D168, se conservará en algunas realizaciones. De acuerdo con el FragMaps, los sustituyentes alifáticos (por ejemplo, ciclohexilo) o aromáticos (por ejemplo, furano) del anillo fenilo central deberían potenciar la unión a la proteína a través de interacciones con V30, V38, A51, I84, L108 y L167. Asimismo, la presencia de mapas de aceptores de enlaces de hidrógeno solapados con los mapas de alifáticos sugiere que se incorporan grupos combinados de alifáticos/aceptores de enlaces de hidrógeno, tales como OEt, en *orto* con respecto al nitrógeno de anilina en algunas realizaciones. Los grupos donantes (por ejemplo NH_2 , OH) y/o aceptores (por ejemplo OMe, isoxazol) de enlaces de hidrógeno se incorporan en las posiciones *orto* y *meta* del anillo de clorofenilo periférico en algunas realizaciones, que puede reemplazarse por un anillo de cloropiridilo en otras realizaciones. Estos cambios aumentan aún más la solubilidad del compuesto. Aunque el cloro del anillo de clorofenilo interactúa modestamente con la proteína según el análisis por SILCS GFE en algunas realizaciones, este sitio también varía con grupos hidrófobos alternativos y más polares en otras realizaciones. El enlace trans-amida se modifica a un *E*-alqueno rígido en algunas realizaciones, y a una sulfonamida más flexible en otras realizaciones. El grupo sulfona SO_2 contribuye con -0,5 kcal/mol a la unión basándose en el análisis por SILCS GFE, lo que indica que esta región de la molécula puede aprovecharse para optimizar las propiedades fisicoquímicas de la molécula sin comprometer la afinidad de unión en algunas realizaciones. Por ejemplo, el grupo SO_2 se reemplaza por un átomo de oxígeno polar en algunas realizaciones, y también por un grupo NMe en otras realizaciones.

30

Esquema 2

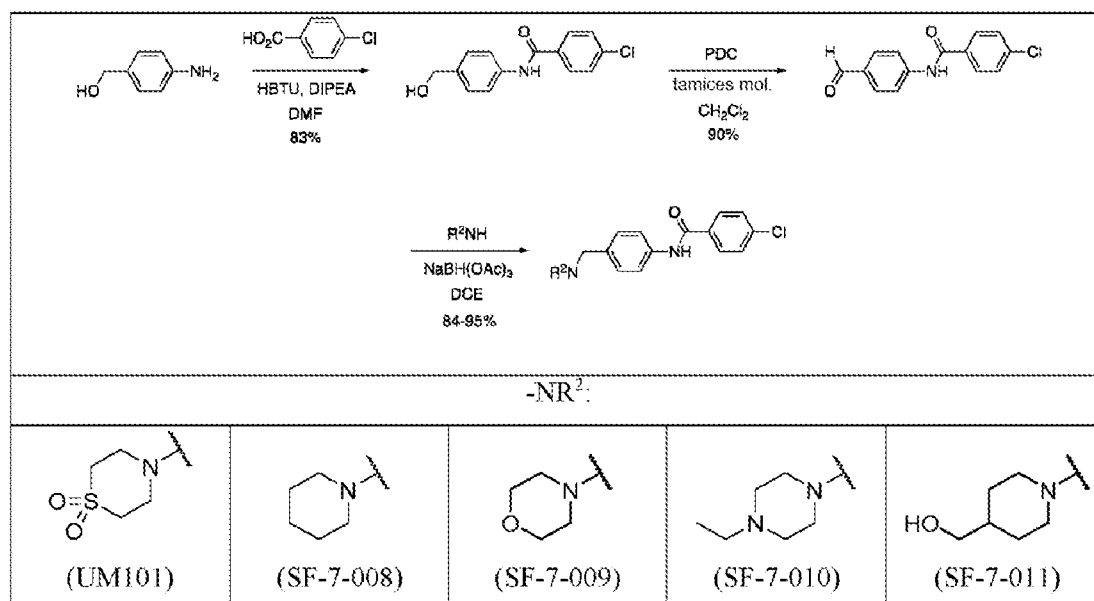


5 Ejemplo 9: Inhibidores novedosos de la proteína cinasa activada por mitógenos p38 en sitios no ATP/catalíticos

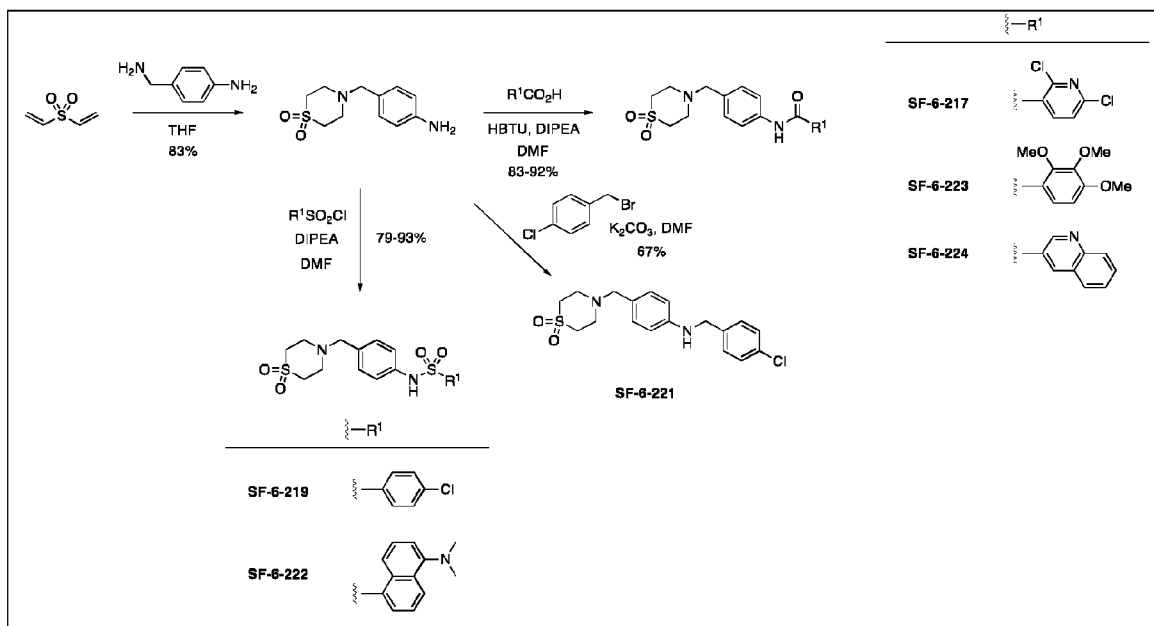
Se usó el diseño de fármacos asistido por ordenador (CADD) para identificar compuestos novedosos de molécula pequeña que se dirigen a sitios seleccionados de unión a sustrato e inhiben la actividad de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAP) p38 que contribuye a la lesión pulmonar aguda. Estos compuestos son únicos en el sentido de que no son inhibidores de cinasas de ATP/sitio catalítico y proporcionan una alternativa a los actuales inhibidores de la MAP cinasa p38 que se dirigen a los sitios diana de unión a ATP o catalíticos y bloquean toda la actividad enzimática. El compuesto UM101 se dirige a la isoforma de MAP cinasa p38 α , que es la principal isoforma de MAP cinasa p38 asociada a la inflamación crónica y al daño tisular asociado a la lesión pulmonar aguda. Los inhibidores actuales de la MAP cinasa p38 se dirigen al sitio catalítico o de unión a ATP, que bloquea toda la actividad enzimática, y carecen de selectividad de isoformas. En cambio, los compuestos divulgados en el presente documento se dirigen a sitios que son exclusivos de las interacciones proteína-sustrato y bloquean funciones específicas de la MAP cinasa p38 α .

Se sintetizaron análogos novedosos de UM101 (Esquemas 3-5) y se comprobaron sus interacciones con la MAP cinasa p38 α y su actividad biológica.

Esquema 3

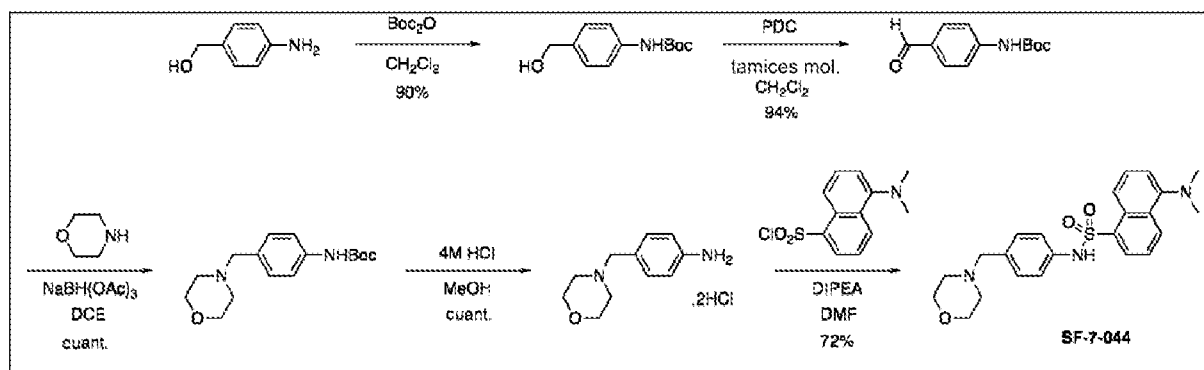


Esquema 4



5

Esquema 5



10 Dos líneas de evidencia sugieren que los compuestos líderes pueden mejorar la función de barrera pulmonar e impedir las lesiones pulmonares. En primer lugar, los compuestos pueden bloquear la permeabilidad celular inducida por trombina en células endoteliales vasculares humanas (FIG. 8). En segundo lugar, ratones expuestos a LPS para inducir inflamación pulmonar tuvieron una reducción de la fuga de proteínas en el fluido de lavado broncoaveolar en presencia del compuesto precursor UM101 y los análogos SF-6-222 y SF-7-009 (FIG. 9), o los análogos SF-6-222, SF-7-009 y SF-7-044 (FIG. 10). Como se muestra en la FIG. 9, UM101 y análogos inhiben la lesión pulmonar aguda en un modelo de ratón. Los ratones se pretrataron i.p. con 1 mg de los compuestos de ensayo y después se trataron con 100 mg de LPS i.t. a 39 °C para inducir la inflamación. La lesión pulmonar se evaluó mediante la medición de las proteínas totales en el líquido de lavado pulmonar. Como se muestra en la FIG. 10, UM101 y análogos inhiben la lesión pulmonar aguda en un modelo de ratón. Todos los ratones recibieron 50 µg de LPS i.t. y se mantuvieron 24 h a 39 °C; todos los tratamientos 1 mg en 0,5 ml de DMSO administrado 6 h post-LPS; media ± EEM, n = 5, * p = 0,03 frente a DMSO n.º 1; † p = 0,16 frente a DMSO n.º 2. La lesión pulmonar se evaluó mediante la medición de las proteínas totales en el líquido de lavado pulmonar.

La aplicación útil de esta invención es proporcionar nuevas terapias para la lesión pulmonar aguda y otras enfermedades provocadas por la inflamación y la permeabilidad endotelial. Asimismo, la invención tiene por objeto superar los problemas de toxicidad y escasa eficacia de los actuales inhibidores de la MAP cinasa p38 utilizados en la clínica para tratar la inflamación.

Para describir el estado de la técnica al que pertenece esta invención, en el presente documento se citan varias publicaciones de patentes y no de patentes.

Aunque determinadas realizaciones de la presente invención se han descrito y/o ejemplificado anteriormente, otras

realizaciones serán evidentes para los expertos en la materia a partir de la divulgación anterior. La presente invención, por lo tanto, no se limita a las realizaciones particulares descritas y/o ejemplificadas, sino que es susceptible de variaciones y modificaciones considerables sin apartarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas

Por otro lado, como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" significa que las cantidades, tamaños, formulaciones, parámetros, formas y otras cantidades y características no son ni deben ser exactos, sino que pueden ser aproximados y/o más grandes o más pequeños, según se desee, reflejando tolerancias, factores de conversión, redondeo, error de medición y similares, y otros factores conocidos por los expertos en la materia. En general, una cantidad, tamaño, formulación, parámetro, forma u otra cantidad o característica es "aproximadamente" o "aproximado", tanto si se indica expresamente o no que es así.

Además, las expresiones de transición "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en", cuando se usan en las reivindicaciones adjuntas, en forma original y modificada, definen el alcance de la reivindicación con respecto a qué elementos o etapas adicionales de la reivindicación no mencionados, si los hay, quedan excluidos del alcance de la reivindicación o reivindicaciones. La expresión "que comprende" pretende ser inclusiva o abierta y no excluye ningún elemento, método, etapa o material adicional no mencionado.

La expresión "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o material distinto de los especificados en la reivindicación y, en última instancia, impurezas ordinarias asociadas al material o materiales especificados. La expresión "que consiste esencialmente en" limita el alcance de una reivindicación a los elementos, etapas o materiales especificados y aquellos que no afectan materialmente a la característica o características básicas y novedosas de la invención reivindicada. Todos los compuestos, composiciones, formulaciones, y métodos descritos en el presente documento que realizan la presente invención pueden, en realizaciones alternativas, definirse más específicamente mediante cualquiera de las expresiones de transición "que comprende", "que consiste esencialmente en", y "que consiste en".

REFERENCIAS

Wagner EF y Nebreda AR (2009) *Signal integration by INK and p38 MAPK pathways in cancer development*. *Nat Rev Cancer* 9(8):537-549.

Thalhamer T, McGrath MA, y Harnett MM (2008) *MAPKs and their relevance to arthritis and inflammation*. *Rheumatology* (Oxford) 47(4):409-414.

Fisk M, Gajendragadkar PR, Maki-Petaja KM, Wilkinson IB, y Cheriyan J (2014) *Therapeutic potential of p38 MAP kinase inhibition in the management of cardiovascular disease*. *Am J Cardiovasc Drugs* 14(3): 155-165.

Krementsov DN, Thornton TM, Teuscher C, y Rincon M (2013) *The emerging role of p38 mitogen-activated protein kinase in multiple sclerosis and its models*. *Mol Cell Biol* 33(19):3728-3734.

Feng YJ y Li YY (2011) *The role of p38 mitogen-activated protein kinase in the pathogenesis of inflammatory bowel disease*. *J Dig Dis* 12(5):327-332.

Chung KF (2011) *p38 mitogen-activated protein kinase pathways in asthma and COPD*. *Chest* 139(6): 1470-1479.

Damarla M, et al. (2009) *Mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2 regulates actin polymerization and vascular leak in ventilator associated lung injury*. *PLoS One* 4(2):e4600.

Shah NG, et al. (2012) *Febrile-range hyperthermia augments reversible TNF-alpha- induced hyperpermeability in human microvascular lung endothelial cells*. *International journal of hyperthermia: the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group* 28(7):627-635.

Tulapurkar ME, et al. (2012) *Febrile-range hyperthermia modifies endothelial and neutrophilic functions to promote extravasation*. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 46(6):807-814.

Damjanov N, Kauffman RS, y Spencer-Green GT (2009) *Efficacy, pharmacodynamics, and safety of VX-702, a novel p38 MAPK inhibitor, in rheumatoid arthritis: results of two randomized, double-blind, placebo-controlled clinical studies*. *Arthritis Rheum* 60(5): 1232-1241.

Watz H, Barnacle H, Hartley BF, y Chan R (2014) *Efficacy and safety of the p38 MAPK inhibitor losmapimod for patients with chronic obstructive pulmonary disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial*. *Lancet Respir Med* 2(1):63-72.

MacNee W, Allan RJ, Jones I, De Salvo MC, y Tan LF (2013) *Efficacy and safety of the oral p38 inhibitor PH-797804 in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised clinical trial*. *Thorax* 68(8):738-745.

- Schreiber S, *et al.* (2006) *Oral p38 mitogen-activated protein kinase inhibition with BIRB 796 for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.* *Clin Gastroenterol Hepatol* 4(3):325-334.
- 5 Pargellis C, *et al.* (2002) *Inhibition of p38 MAP kinase by utilizing a novel allosteric binding site.* *Nat Struct Biol* 9(4):268-272.
- Davidson W, *et al.* (2004) *Discovery and characterization of a substrate selective p38alpha inhibitor.* *Biochemistry* 43(37): 11658-11671.
- 10 Hendriks BS, Seidl KM, y Chabot JR (2010) *Two additive mechanisms impair the differentiation of 'substrate-selective' p38 inhibitors from classical p38 inhibitors in vitro.* *BMC Syst Biol* 4:23.
- Marber MS, Molkentin JD, y Force T (2010) *Developing small molecules to inhibit kinases unkind to the heart: p38 MAPK as a case in point.* *Drug Discov Today Dis Mech* 7(2):e123-e127.
- 15 Beardmore VA, *et al.* (2005) *Generation and characterization of p38beta (MAPK11) gene-targeted mice.* *Mol Cell Biol* 25(23): 10454-10464.
- O'Keefe SJ, *et al.* (2007) *Chemical genetics define the roles of p38alpha and p38beta in acute and chronic inflammation.* *J Biol Chem* 282(48):34663-34671.
- 20 Ferrari G, *et al.* (2012) *TGF-beta1 induces endothelial cell apoptosis by shifting VEGF activation of p38(MAPK) from the prosurvival p38beta to proapoptotic p38alpha.* *Mol Cancer Res* 10(5):605-614.
- 25 Liu H, Yanamandala M, Lee TC, y Kim JK (2014) *Mitochondrial p38beta and manganese superoxide dismutase interaction mediated by estrogen in cardiomyocytes.* *PLoS One* 9(1):e85272.
- Ananieva O, *et al.* (2008) *The kinases MSK1 and MSK2 act as negative regulators of Toll-like receptor signaling.* *Nat Immunol* 9(9): 1028-1036.
- 30 Kim C, *et al.* (2008) *The kinase p38 alpha serves cell type-specific inflammatory functions in skin injury and coordinates pro- and anti-inflammatory gene expression.* *Nat Immunol* 9(9): 1019-1027.
- Cherian J, *et al.* (2011) *Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase improves nitric oxide-mediated vasodilatation and reduces inflammation in hypercholesterolemia.* *Circulation* 123(5):515-523.
- 35 Tanoue T, Adachi M, Moriguchi T, y Nishida E (2000) *A conserved docking motif in MAP kinases common to substrates, activators and regulators.* *Nat Cell Biol* 2(2): 110-116.
- 40 Tanoue T, Maeda R, Adachi M, y Nishida E (2001) *Identification of a docking groove on ERK and p38 MAP kinases that regulates the specificity of docking interactions.* *Embo J* 20(3):466-479.
- Tzarum N, Komornik N, Ben Chetrit D, Engelberg D, y Livnah O (2013) *DEF pocket in p38alpha facilitates substrate selectivity and mediates autophosphorylation.* *The Journal of Biological Chemistry* 288(27): 19537-19547.
- 45 ter Haar E, Prabhakar P, Liu X, y Lepre C (2007) *Crystal structure of the p38 alpha- MAPKAP kinase 2 heterodimer.* *J Biol Chem* 282(13):9733-9739.
- Pan Y, Huang N, Cho S, y MacKerell AD, Jr. (2003) *Consideration of molecular weight during compound selection in virtual target-based database screening.* *J Chem Inf Comput Sci* 43(1):267-272.
- 50 Butina D (1999) *Unsupervised Data Base Clustering on Daylight's Fingerprint and Tanimoto Similarity: A Fast and Automated Way to Cluster Small and Large Data Sets.* *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 39:747-750.
- 55 Godden JW, Stahura FL, y Bajorath J (2005) *Anatomy of fingerprint search calculations on structurally diverse sets of active compounds.* *Journal of chemical information and modeling* 45(6): 1812-1819.
- Oashi T, Ringer AL, Raman EP, y Mackerell AD (2011) *Automated selection of compounds with physicochemical properties to maximize bioavailability and druglikeness.* *Journal of chemical information and modeling* 51(1): 148-158.
- 60 Niesen FH, Berglund H, y Vedadi M (2007) *The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability.* *Nat Protoc* 2(9):2212- 2221.
- Rice P, *et al.* (2005) *Febrile-range Hyperthermia Augments Neutrophil Accumulation and Enhances Lung Injury in Experimental Gram-negative Bacterial Pneumonia.* *J. Immunol.* 174:3676-3685.
- 65

- Jiang MZ, *et al.* (2005) *Effects of antioxidants and NO on TNF-alpha-induced adhesion molecule expression in human pulmonary microvascular endothelial cells.* *Respir Med* 99(5):580-591.
- 5 Viemann D, *et al.* (2006) *TNF induces distinct gene expression programs in microvascular and macrovascular human endothelial cells.* *J Leukoc Biol* 80(1): 174-185.
- Vivoli M, Novak HR, Littlechild JA, y Harmer NJ (2014) *Determination of protein- ligand interactions using differential scanning fluorimetry.* *J Vis Exp* (91):51809.
- 10 Hancock CN, *et al.* (2005) *Identification of novel extracellular signal-regulated kinase docking domain inhibitors.* *J Med Chem* 48(14):4586-4595.
- Burkhard K, Smith S, Deshmukh R, MacKerell AD, Jr., y Shapiro P (2009) *Development of extracellular signal-regulated kinase inhibitors.* *Curr Top Med Chem* 9(8):678-689.
- 15 Godl K, *et al.* (2003) *An efficient proteomics method to identify the cellular targets of protein kinase inhibitors.* *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(26): 15434-15439.
- Mayer M y Meyer B (2001) *Group epitope mapping by saturation transfer difference NMR to identify segments of a ligand in direct contact with a protein receptor.* *J Am Chem Soc* 123(25):6108-6117.
- 20 Zhong W, *et al.* (2014) *Activation of the MAPK11/12/13/14 (p38 MAPK) pathway regulates the transcription of autophagy genes in response to oxidative stress induced by a novel copper complex in HeLa cells.* *Autophagy* 10(7): 1285-1300.
- 25 Hu J, *et al.* (2014) *Global analysis of phosphorylation networks in humans.* *Biochim Biophys Acta* 1844(1 Pt B):224-231.
- Zhao J, *et al.* (2015) *Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor attenuates endothelial hyperpermeability after thermal injury.* *Am J Transl Res* 7(3):474-488.
- 30 Best RB, *et al.* (2012) *Optimization of the additive CHARMM all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone phi, psi and side-chain chi(l) and chi(2) dihedral angles.* *J Chem Theory Comput* 8(9):3257-3273.
- 35 Vanommeslaeghe K, *et al.* (2010) *CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields.* *J Comput Chem* 31(4):671-690.
- Phillips JC, *et al.* (2005) *Scalable molecular dynamics with NAMD.* *J. Comput. Chem.* 26:1781-1802.
- 40 Foster TJ, MacKerell AD, Jr., y Guvench O (2012) *Balancing target flexibility and target denaturation in computational fragment-based inhibitor discovery.* *J Comput Chem* 33(23): 1880-1891.
- Karpen ME, Tobias DJ, y Brooks CL, 3.^o (1993) *Statistical clustering techniques for the analysis of long molecular dynamics trajectories: analysis of 2.2-ns trajectories of YPGDV.* *Biochemistry* 32(2):412-420.
- 45 Zhong S y MacKerell AD, Jr. (2007) *Binding response: a descriptor for selecting ligand binding site on protein surfaces.* *Journal of chemical information and modeling* 47(6):2303-2315.
- DesJarlais RL, Sheridan RP, Dixon JS, Kuntz ID, y Venkataraghavan R (1986) *Docking flexible ligands to macromolecular receptors by molecular shape.* *Journal of Medicinal Chemistry* 29(11):2149-2153.
- 50 Kuntz ID, Blaney JM, Oatley SJ, Langridge R, y Ferrin TE (1982) *A geometric approach to macromolecule-ligand interactions.* *Journal of Molecular Biology* 161(2):269- 288.
- 55 Makino S y Kuntz ID (1997) *Automated Flexible Ligand Docking Method and Its Application for Database Search.* *Journal of Computational Chemistry* 18:1812-1825.
- Pan Y, Huang N, Cho S, y MacKerell AD, Jr. (2003) *Consideration of molecular weight during compound selection in virtual target-based database screening.* *J Chem Inf Comput Sci* 43(1):267-272.
- 60 Lipinski CA (2000) *Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability.* *J Pharmacol Toxicol Methods* 44(1):235-249.
- Gong P, *et al.* (2008) *TLR4 signaling is coupled to SRC family kinase activation, tyrosine phosphorylation of zonula adherens proteins, and opening of the paracellular pathway in human lung microvascular endothelia.* *The Journal of Biological Chemistry* 283(19):13437-13449.
- 65

- Liu A, et al. (2012) *TRAF6 protein couples Toll-like receptor 4 signaling to Src family kinase activation and opening of paracellular pathway in human lung microvascular endothelia*. *The Journal of Biological Chemistry* 287(20): 16132-16145.
- 5 Hasday JD, et al. (2001) *Exposure to febrile temperature modifies endothelial cell response to tumor necrosis factor- α* . *J. Appl. Physiol.* 90:90-98.
- 10 Sakarya S, et al. (2004) *Mobilization of neutrophil sialidase activity desialylates the pulmonary vascular endothelial surface and increases resting neutrophil adhesion to and migration across the endothelium*. *Glycobiology* 14(6):481-494.
- 15 Livak KJ y Schmittgen TD (2001) *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method*. *Methods* 25(4):402-408.
- Gupta A, et al. (2013) *Toll-like receptor agonists and febrile range hyperthermia synergize to induce heat shock protein 70 expression and extracellular release*. *The Journal of Biological Chemistry* 288(4):2756-2766.
- 20 Kotlyarov, A. et al. *MAPKAP kinase 2 is essential for LPS-induced TNF- α biosynthesis*. *Nat Cell Biol* 1, 94-97, (1999).
- Neininger, A. et al. *MK2 targets AU-rich elements and regulates biosynthesis of tumor necrosis factor and interleukin-6 independently at different post-transcriptional levels*. *J Biol Chem* 277, 3065-3068, (2002).
- 25 Shi, J. X., Su, X., Xu, J., Zhang, W. Y. y Shi, Y. *MK2 posttranscriptionally regulates TNF- α -induced expression of ICAM-1 and IL-8 via tristetraprolin in human pulmonary microvascular endothelial cells*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 302, L793-799, (2012).
- 30 Wolfson, R. K., Chiang, E. T. y Garcia, J. G. *HMGB1 induces human lung endothelial cell cytoskeletal rearrangement and barrier disruption*. *Microvasc Res* 81, 189-197, (2011).
- Hannigan, M. O. et al. *Abnormal migration phenotype of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2-/- neutrophils in Zigmond chambers containing formyl- methionyl-leucyl-phenylalanine gradients*. *J Immunol* 167, 3953-3961, (2001).
- 35 Trempolec, N., Dave-Coll, N. y Nebreda, A. R. *Snapshot: p38 MAPK substrates*. *Cell* 152, 924-924 e921, (2013).
- Cuadrado, A. y Nebreda, A. R. *Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling*. *The Biochemical journal* 429, 403-417, (2010).
- 40 Hayes, S. A., Huang, X., Kambhampati, S., Platanias, L. C. y Bergan, R. C. *p38 MAP kinase modulates Smad-dependent changes in human prostate cell adhesion*. *Oncogene* 22, 4841-4850, (2003).
- 45 Hammaker, D. y Firestein, G. S. *"Go upstream, young man": lessons learned from the p38 saga*. *Ann Rheum Dis* 69 Supl. 1, i77-82, (2010).
- Zhang, J., Shen, B. y Lin, A. *Novel strategies for inhibition of the p38 MAPK pathway*. *Trends Pharmacol Sci* 28, 286-295, (2007).
- 50 Raman, E. P., Yu, W., Guvench, O. y Mackerell, A. D. *Reproducing crystal binding modes of ligand functional groups using Site-Identification by Ligand Competitive Saturation (SILCS) simulations*. *Journal of chemical information and modeling* 51, 877-896, (2011).
- 55 Boston, S. R. et al. *Characterization of ERK docking domain inhibitors that induce apoptosis by targeting Rsk-1 and caspase-9*. *BMC Cancer* 11, 7, (2011).
- Irwin, J. J., Sterling, T., Mysinger, M. M., Bolstad, E. S. y Coleman, R. G. *ZINC: a free tool to discover chemistry for biology*. *J Chem Inf Model* 52, 1757-1768, (2012).
- 60 Guvench, O. y MacKerell, A. D., Jr. *Computational fragment-based binding site identification by ligand competitive saturation*. *PLoS computational biology* 5, e1000435, (2009).
- 65 Raman, E. P., Yu, W., Lakkaraju, S. K. y Mackerell, A. D., Jr. *Inclusion of Multiple Fragment Types in the Site Identification by Ligand Competitive Saturation (SILCS) Approach*. *Journal of chemical information and modeling* 53, 3384-3398, (2013).

- Ekins, S., Boulanger, B., Swaan, P. W. y Hupcey, M. A. *Towards a new age of virtual ADME/TOX and multidimensional drug discovery. J Comput Aided Mol Des* 16, 381- 401, (2002).
- 5 Ekins, S. *et al. Progress in predicting human ADME parameters in silico. J Pharmacol Toxicol Methods* 44, 251-272, (2000).
- Oprea, T. I., Davis, A. M., Teague, S. J. y Leeson, P. D. *Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective. J Chem Inf Comput Sci* 41, 1308-1315, (2001).
- 10 Cerchietti, L. C. *et al. A small-molecule inhibitor of BCL6 kills DLBCL cells in vitro and in vivo. Cancer Cell* 17, 400-411, (2010).
- Chen, I. J. *et al. Identification of HIV-1 integrase inhibitors via three-dimensional database searching using ASV and HIV-1 integrases as targets. Bioorgan Med Chem* 8, 2385- 2398, (2000).
- 15 Chen, X. *et al. Rational design of human DNA ligase inhibitors that target cellular DNA replication and repair. Cancer research* 68, 3169-3177, (2008).
- Furci, L. M. *et al. Inhibition of the bacterial heme oxygenases from Pseudomonas aeruginosa and Neisseria meningitidis: Novel antimicrobial targets. Journal of Medicinal Chemistry* 50, 3804-3813, (2007).
- 20 Huang, N., Nagarsekar, A., Xia, G. J., Hayashi, J. y MacKerell, A. D. *Identification of non-phosphate-containing small molecular weight inhibitors of the tyrosine kinase p56*
- 25 *Lck SH2 domain via in silico screening against the pY+3 binding site. Journal of Medicinal Chemistry* 47, 3502-3511, (2004).
- Markowitz, J. *et al. Identification and characterization of small molecule inhibitors of the calcium-dependent S100B-p53 tumor suppressor interaction. Journal of Medicinal Chemistry* 47, 5085-5093, (2004).
- 30 Yu, B. *et al. Targeting Protein Tyrosine Phosphatase SHP2 for the Treatment of PTPN11-Associated Malignancies. Mol Cancer Ther* 12, 1738-1748, (2013).
- Hasday, J. *et al. Febrile-Range Hyperthermia Augments Pulmonary Neutrophil Recruitment and Amplifies Pulmonary Oxygen Toxicity. Am J. Pathol.* 162, 2005-2017, (2003).
- 35 Chen, W. H., Kang, T. J., Bhattacharjee, A. K. y Cross, A. S. *Intranasal administration of a detoxified endotoxin vaccine protects mice against heterologous Gram-negative bacterial pneumonia. Innate Immun* 14, 269-278, (2008).
- 40 Feng, C. *et al. Neuraminidase reprograms lung tissue and potentiates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. Journal of immunology* 191, 4828- 4837, (2013).
- Aqvist, J., Medina, C. y Samuelsson, J. E. *A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design. Protein Eng* 7, 385-391, (1994).
- 45 Chen, X., Rusinko, A., 3.^o, Tropsha, A. y Young, S. S. *Automated pharmacophore identification for large chemical data sets. J Chem Inf Comput Sci* 39, 887-896, (1999).
- Feig, M. y Brooks, C. L., 3.^o. *Recent advances in the development and application of implicit solvent models in biomolecule simulations. Curr Opin Struct Biol* 14, 217-224, (2004).
- 50 Lee, M. S., Feig, M., Salsbury, F. R., Jr. y Brooks, C. L., 3.^o. *New analytic approximation to the standard molecular volume definition and its application to generalized Bom calculations. J Comput Chem* 24, 1348-1356, (2003).
- 55 Qui, D., Shenkin, P. S., Hollinger, F. P. y Still, W. C. *The GB/SA Continuum Model for Solvation. A Fast Analytical Method for the Calculation of Approximate Bom Radii. J. Phys. Chem. A* 101, 3005-3014, (1997).
- Frese, C. K. *et al. Unambiguous phosphosite localization using electron- transfer/higher-energy collision dissociation (EThcD). J Proteome Res* 12, 1520-1525, (2013).
- 60 Swaney, D. L., McAlister, G. C. y Coon, J. J. *Decision tree-driven tandem mass spectrometry for shotgun proteomics. Nat Methods* 5, 959-964, (2008).
- Saba, J., Dutta, S., Hemenway, E. y Viner, R. *Increasing the productivity of glycopeptides analysis by using higher-energy collision dissociation-accurate mass-product- dependent electron transfer dissociation. Int J Proteomics* 2012, 560391, (2012).
- 65

- Distler, U. *et al.* Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. *Nat Methods* 11, 167-170, (2014).
- 5 Williamson, J. C. *et al.* High-performance hybrid Orbitrap mass spectrometers for quantitative proteome analysis: Observations and implications. *Proteomics* 16, 907-914, (2016).
- Cox, J. *et al.* Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ. *Mol Cell Proteomics* 13, 2513-2526, (2014).
- 10 Li, X. *et al.* Quantifying Kinase-specific Phosphorylation Stoichiometry Using Stable Isotope Labeling In a Reverse In-gel Kinase Assay. *Anal Chem*, (2016).
- Wang, Z. *et al.* The structure of mitogen-activated protein kinase p38 at 2.1-Å resolution. *Proc Natl Acad Sci US A* 94, 2327-2332, (1997).
- 15 Barker, J. J. *et al.* Fragment-based identification of Hsp90 inhibitors. *ChemMedChem* 4, 963-966, (2009).
- Chang, C. I., Xu, B. E., Akella, R., Cobb, M. H. y Goldsmith, E. J. Crystal structures of MAP kinase p38 complexed to the docking sites on its nuclear substrate MEF2A and activator MKK3b. *Mol Cell* 9, 1241-1249, (2002).
- 20 Wang, Z. *et al.* Structural basis of inhibitor selectivity in MAP kinases. *Structure* 6, 1117-1128, (1998).
- Watterson, D. M. *et al.* Development of Novel Chemical Probes to Address CNS Protein Kinase Involvement in Synaptic Dysfunction. *PLoS One* 8, e66226, (2013).
- 25 White, A., Pargellis, C. A., Studts, J. M., Werneburg, B. G. y Farmer, B. T., 2.º. Molecular basis of MAPK-activated protein kinase 2:p38 assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 6353-6358, (2007).
- Zhang, Y. Y., Wu, J. W. y Wang, Z. X. A distinct interaction mode revealed by the crystal structure of the kinase p38 α with the MAPK binding domain of the phosphatase MKP5. *Sci Signal* 4, ra88, (2011).
- 30 Leavitt, S. y Freire, E. Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry. *Curr Opin Struct Biol* 11, 560-566, (2001).
- 35 DeNardo, B. D. *et al.* Quantitative phosphoproteomic analysis identifies activation of the RET and IGF-1R/IR signaling pathways in neuroblastoma. *PLoS One* 8, e82513, (2013).
- Soderholm, S., Hintsanen, P., Ohman, T., Aittokallio, T. y Nyman, T. A. PhosFox: a bioinformatics tool for peptide-level processing of LC-MS/MS-based phosphoproteomic data. *Proteome Sci* 12, 36, (2014).
- 40 Adams, P. D. y Parker, P. J. Activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by a MAP kinase-kinase. *J Biol Chem* 267, 13135-13137, (1992).
- Boersema, P. J., Raijmakers, R., Lemeer, S., Mohammed, S. y Heck, A. J. Multiplex peptide stable isotope dimethyl labeling for quantitative proteomics. *Nat Protoc* 4, 484-494, (2009).
- 45 Lanning, M. E. *et al.* Structure-based design of N-substituted 1-hydroxy-4-sulfamoyl- 2-naphthoates as selective inhibitors of the Mcl-1 oncoprotein. *Eur J Med Chem* 113, 273- 292, (2016).
- 50 Jung, K. Y. *et al.* Structural modifications of (Z)-3-(2-aminoethyl)-5-(4-ethoxybenzylidene)thiazolidine-2,4-dione that improve selectivity for inhibiting the proliferation of melanoma cells containing active ERK signaling. *Org Biomol Chem* 11, 3706-3732, (2013).
- Jiang, Q. *et al.* Febrile Core Temperature is Essential for Optimal Host Defense in Bacterial Peritonitis. *Infect. Immun.* 68, 1265-1270, (2000).
- 55 Jiang, Q., DeTolla, L., Kalvakolanu, I., Fitzgerald, B. y Hasday, J. D. Fever upregulates expression of pyrogenic cytokines in endotoxin-challenged mice. *Am. J. Physiol.* 276, R1653-R1660, (1999).
- 60 Jiang, Q. *et al.* Febrile range temperature modifies early systemic TNF α expression in mice challenged with bacterial endotoxin. *Infect. Immun.* 67, 1539-1546, (1999).
- Workman, P. *et al.* Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *Br J Cancer* 102, 1555-1577, (2010).
- 65

Dai, B. *et al.* *Extracellular Signal-Regulated Kinase Positively Regulates the Oncogenic Activity of MCT-1 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma.* *Cancer Research* 69, 7835-7843, (2009).

- 5 Fandy, T., Abdallah, I., Khayat, M., Colby, D. y Hassan, H. *In Vitro Characterization of Transport and Metabolism of the Alkaloids: Vincamine, Vinpocetine and Ebumamonine.* *Cancer Chemother Pharmacol* en prensa, (2015).

Yu, M. *et al.* *Simultaneous determination of L-tetrahydropalmatine and cocaine in human plasma by simple UPLC-FLD method: application in clinical studies.* *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 965, 39-44, (2014).

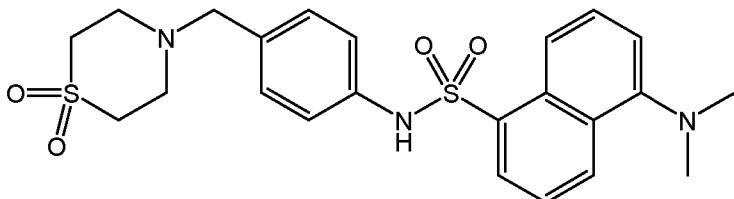
- 10 Mason, C. W. *et al.* *Characterization of the transport, metabolism, and pharmacokinetics of the dopamine D3 receptor-selective fluorenyl- and 2-pyridylphenyl amides developed for treatment of psychostimulant abuse.* *J Pharmacol Exp Ther* 333, 854- 864, (2010).

- 15 Shah, N. G., Tulapurkar, M. E., Ramarathnam, A., Brophy, A., Martinez, R., 3.º, Hom, K., Hodges, T., Samadani, R., Singh, I. S., MacKerell, A. D., Jr., Shapiro, P. y Hasday, J. D. (2017) *Novel Noncatalytic Substrate-Selective p38alpha-Specific MAPK Inhibitors with Endothelial-Stabilizing and Anti-Inflammatory Activity,* *J Immunol* 198, 3296-3306.

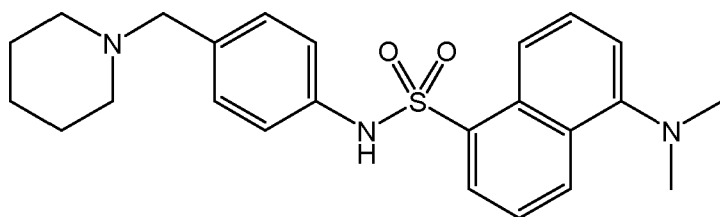
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de un compuesto de Fórmula (1085), Fórmula (1086), Fórmula (1087), Fórmula (1088), Fórmula (1089), y una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores:

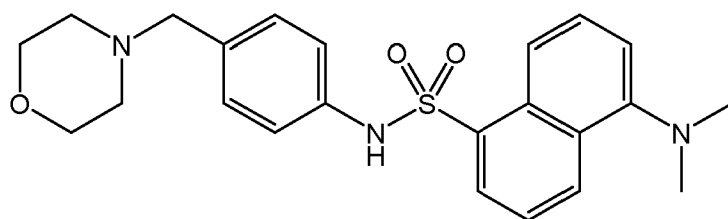
5



(1085)

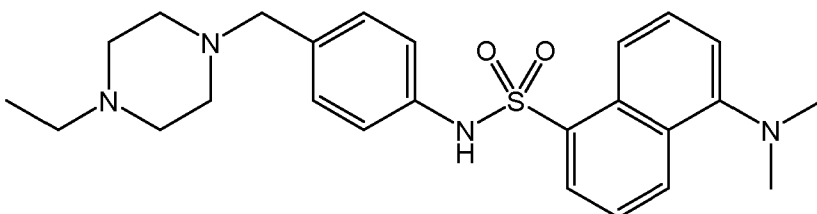


(1086)

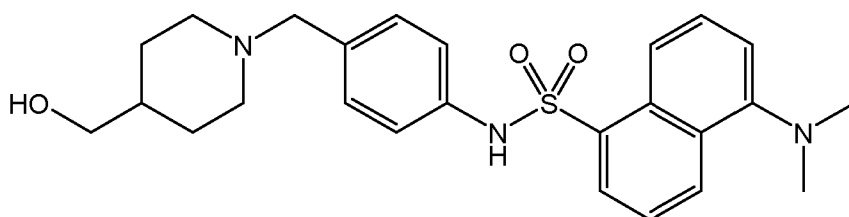


(1087)

10



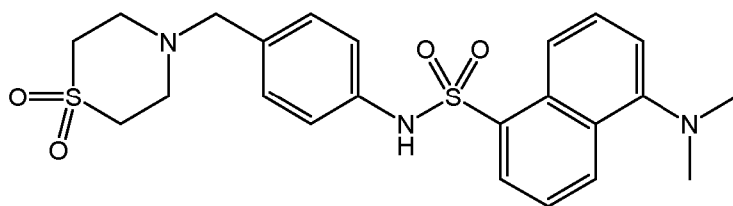
(1088)



(1089)

15

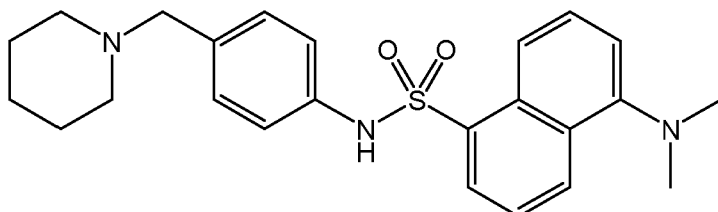
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el compuesto de Fórmula (1085) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



(1085).

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el compuesto de Fórmula (1086) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

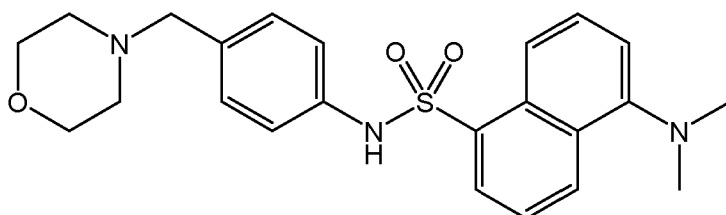
5



(1086).

4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el compuesto de Fórmula (1087) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

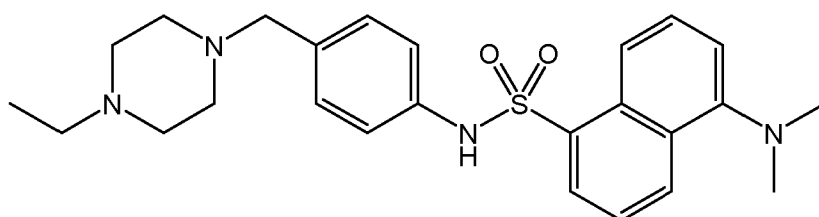
10



(1087).

5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el compuesto de Fórmula (1088) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

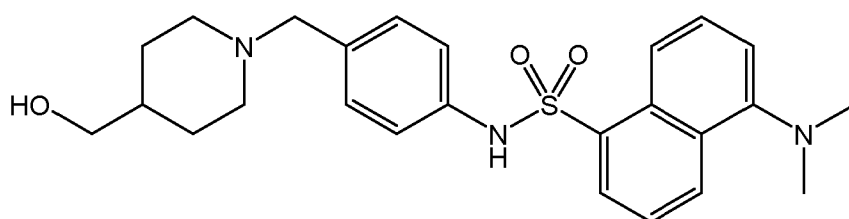
15



(1088).

6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el compuesto de Fórmula (1089) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

20



(1089).

7. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una

sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente.
- 10 10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad inflamatoria en un paciente, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesión pulmonar aguda (LPA).
- 15 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad inflamatoria en un paciente, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de artritis reumatoide, una enfermedad cardiovascular, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesión pulmonar aguda (LPA).

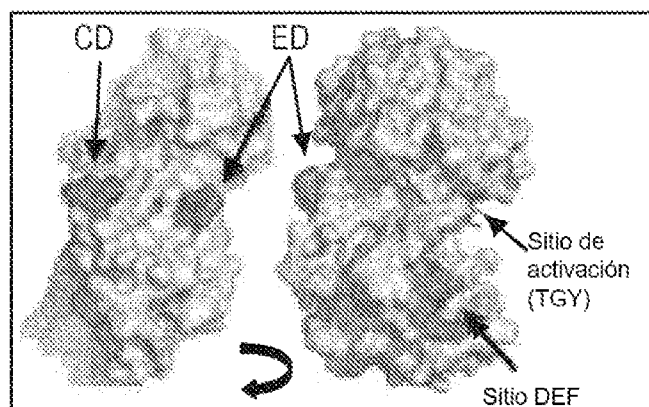
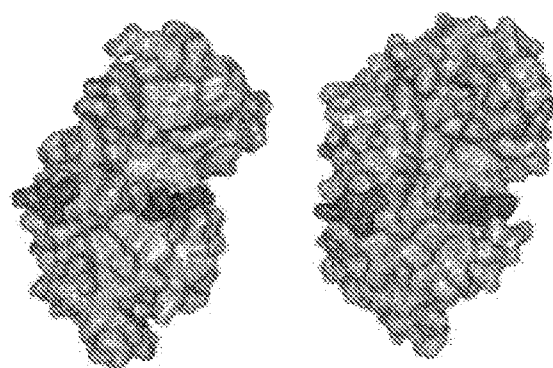


FIG. 1A



MAPK14 (p38 α) MAPK11 (p38 β)

FIG. 1B

Secuencia de bolsillo diana en MAPK14 y MAPK11:

MAPK14: R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, K165

MAPK11: K49, T107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, R165

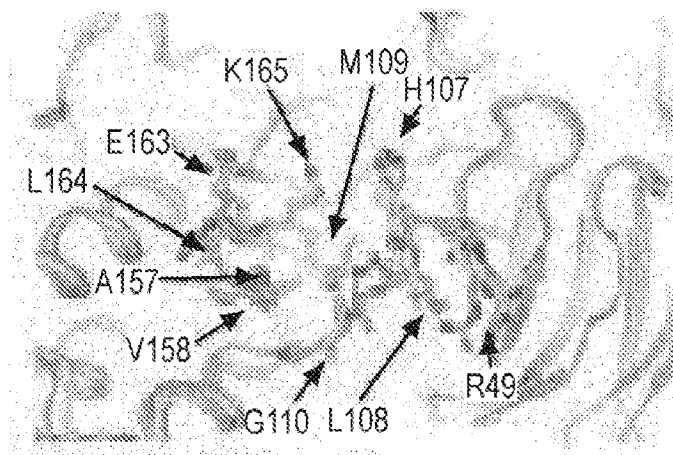


FIG. 1C

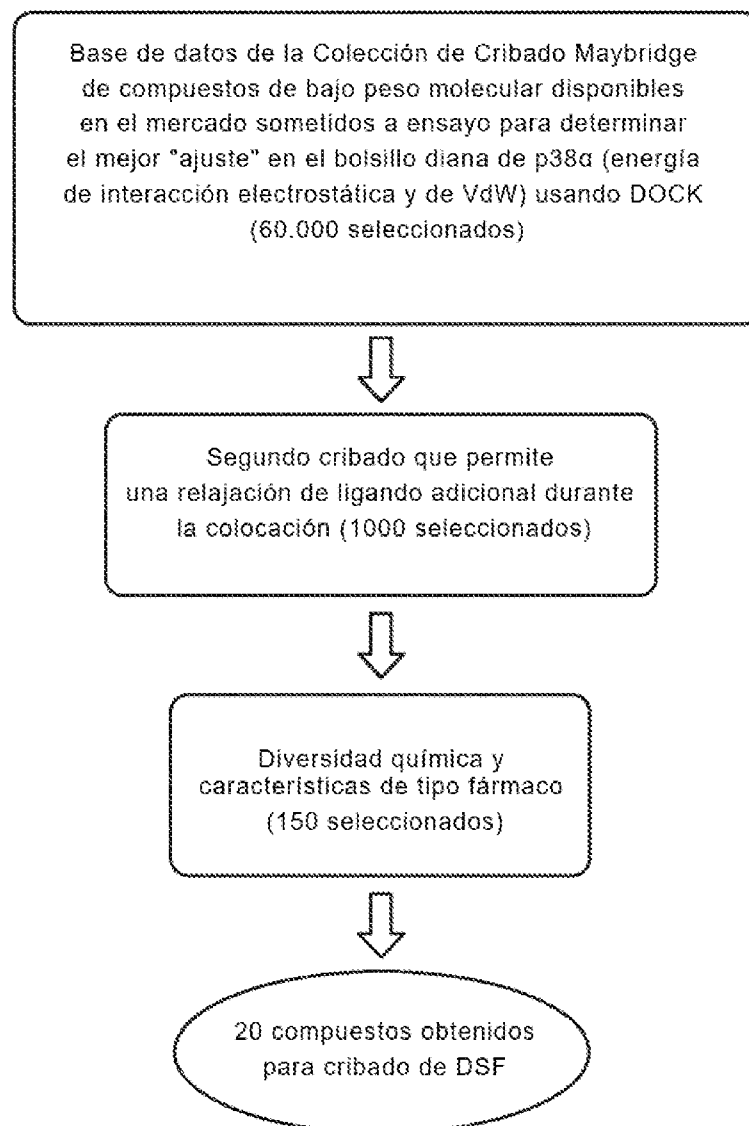


FIG. 1D

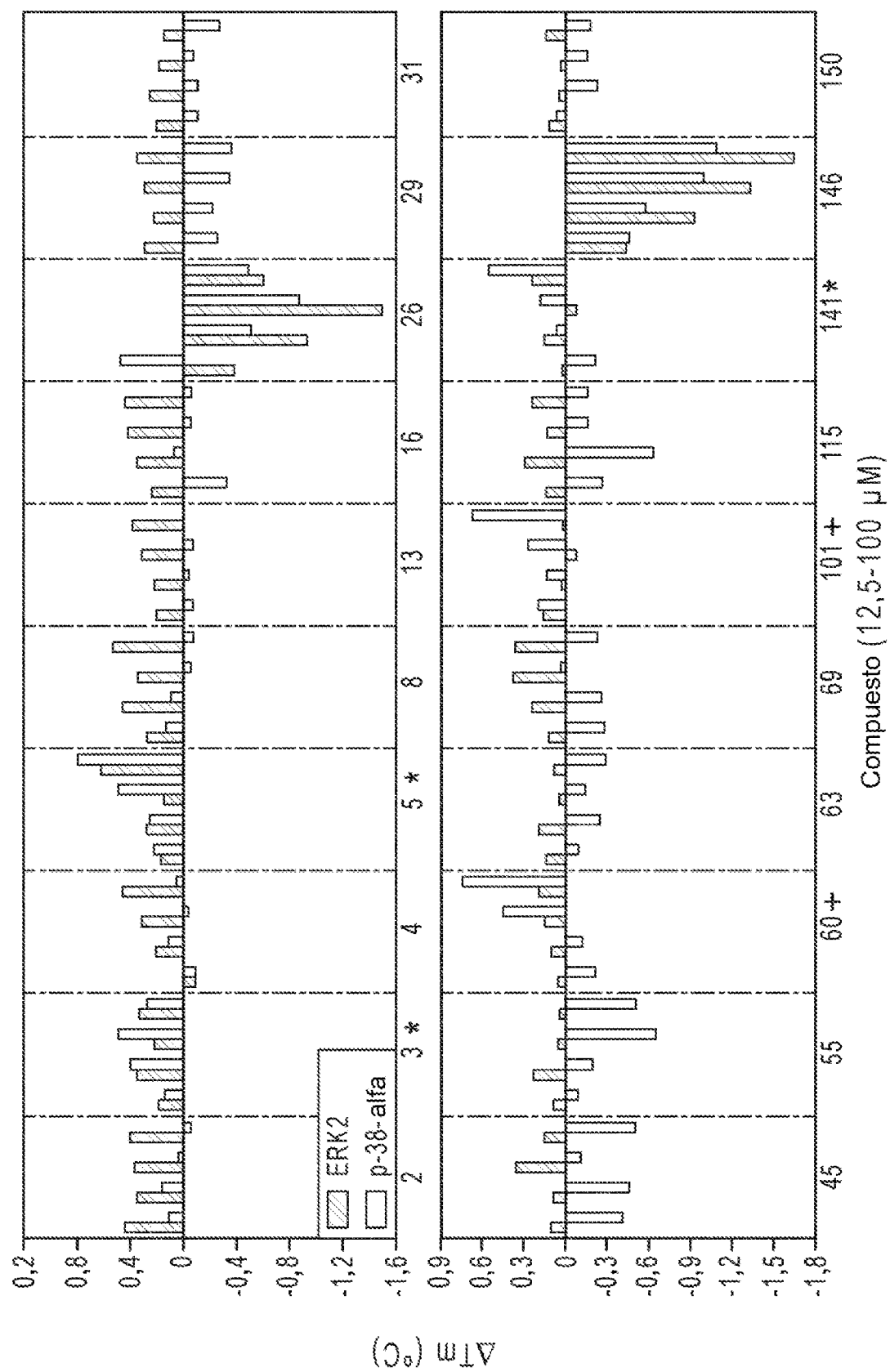


FIG. 1E

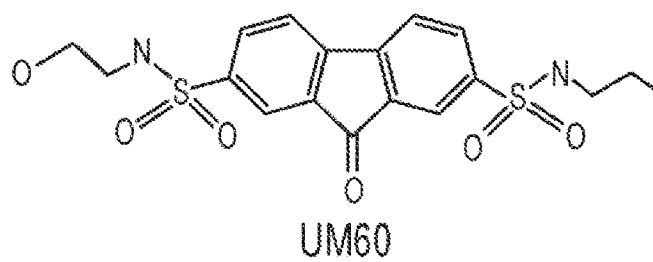
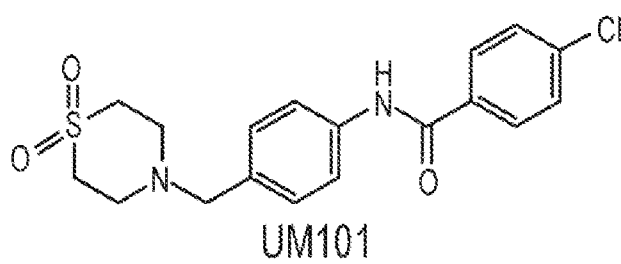
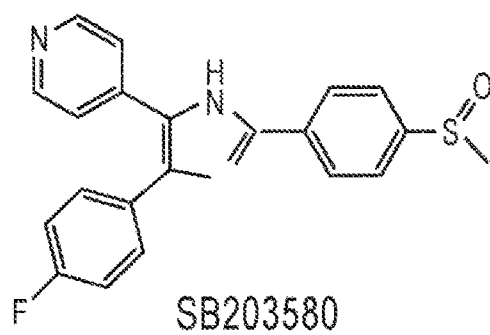


FIG. 1F

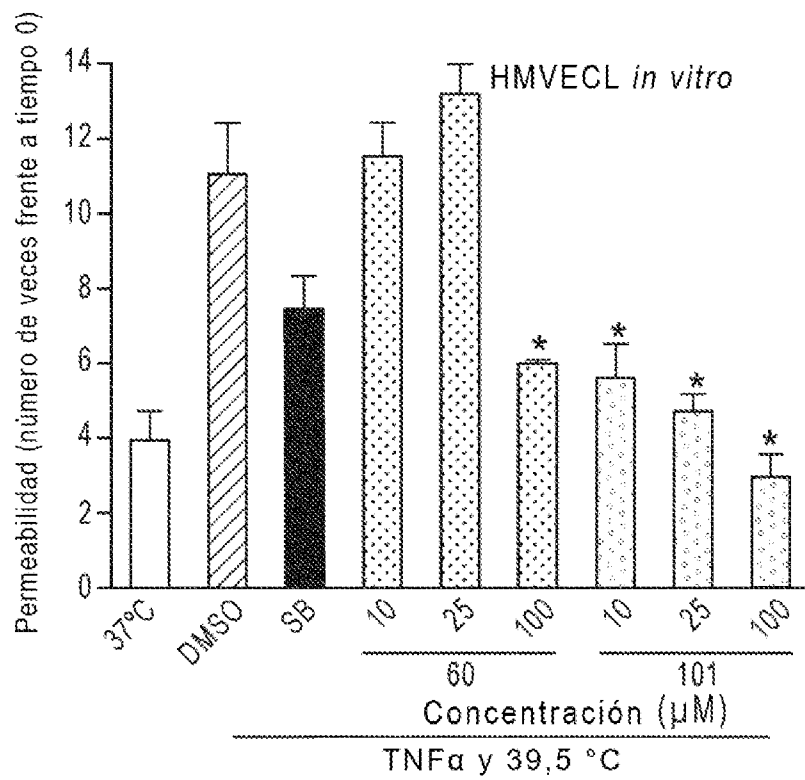


FIG. 2A

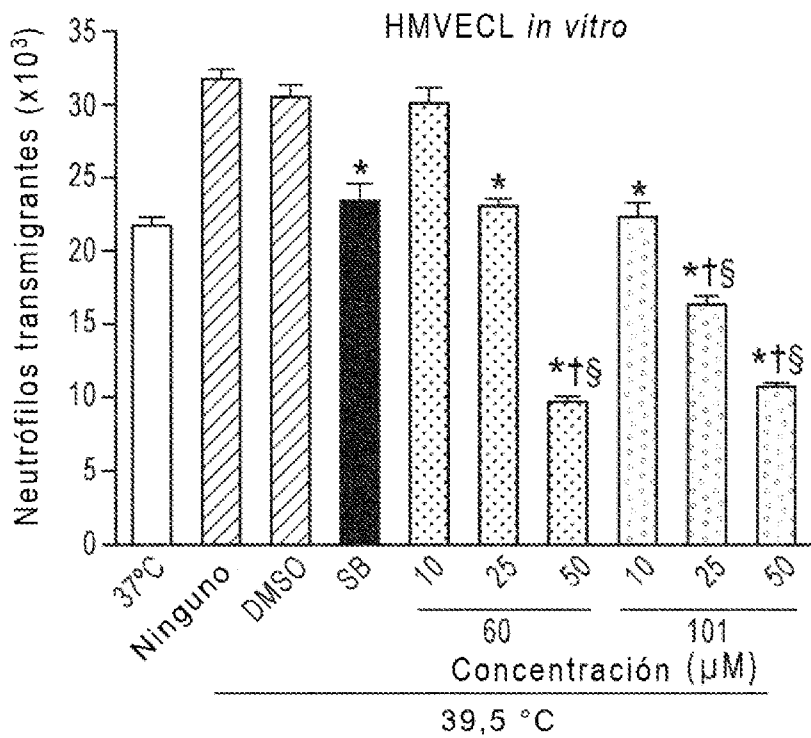


FIG. 2B

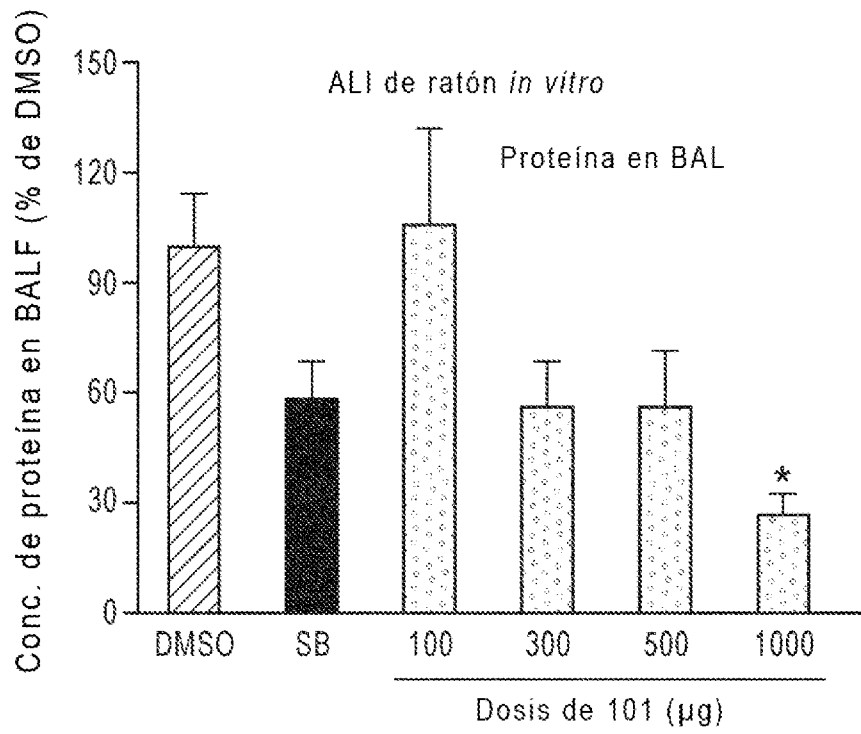


FIG. 2C

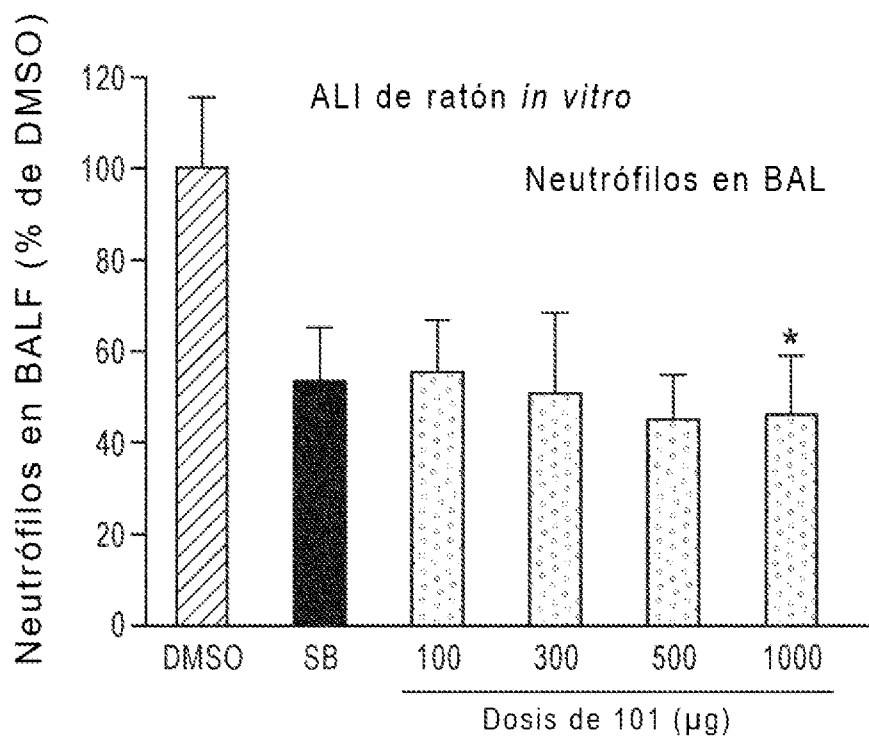


FIG. 2D

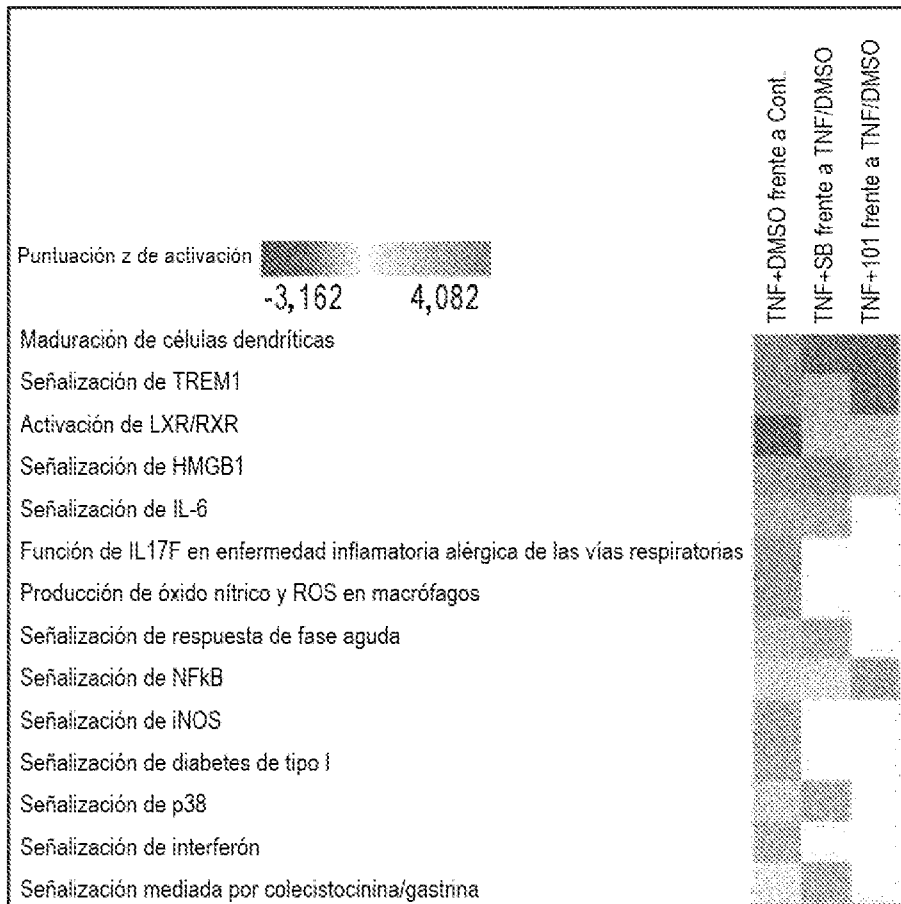


FIG. 3A

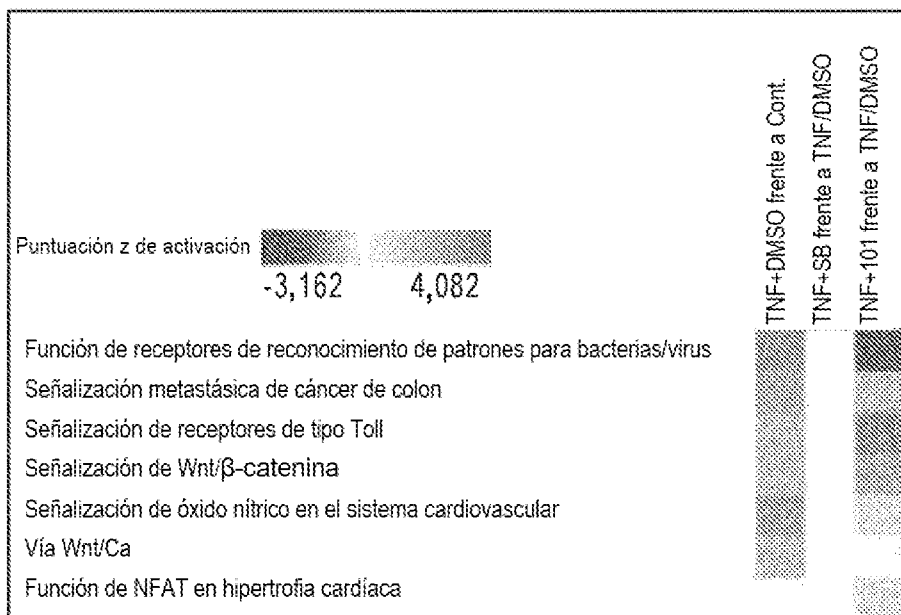


FIG. 3B

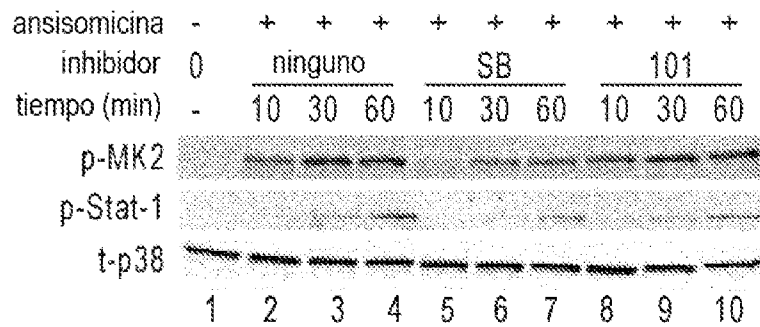


FIG. 3C

Secuencia de bolsillo diana en MAPK14 y MAPK11:

p38α de TS: R49, H107, L108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, K165

Mutante: K49, T107, F108, M109, G110, A157, V158, E163, L164, R165

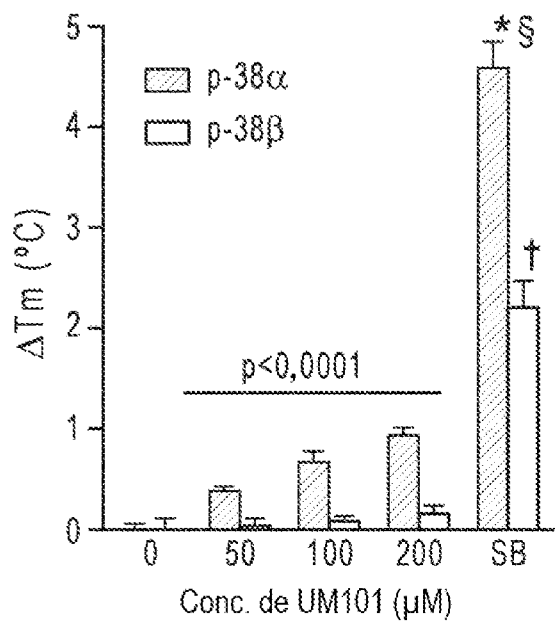


FIG. 3D

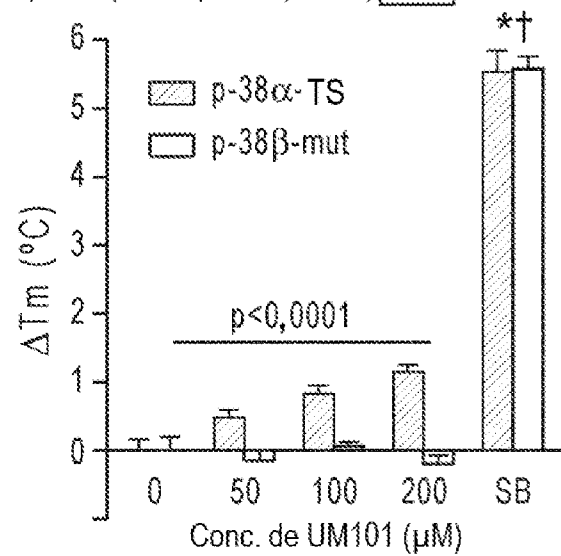


FIG. 3E

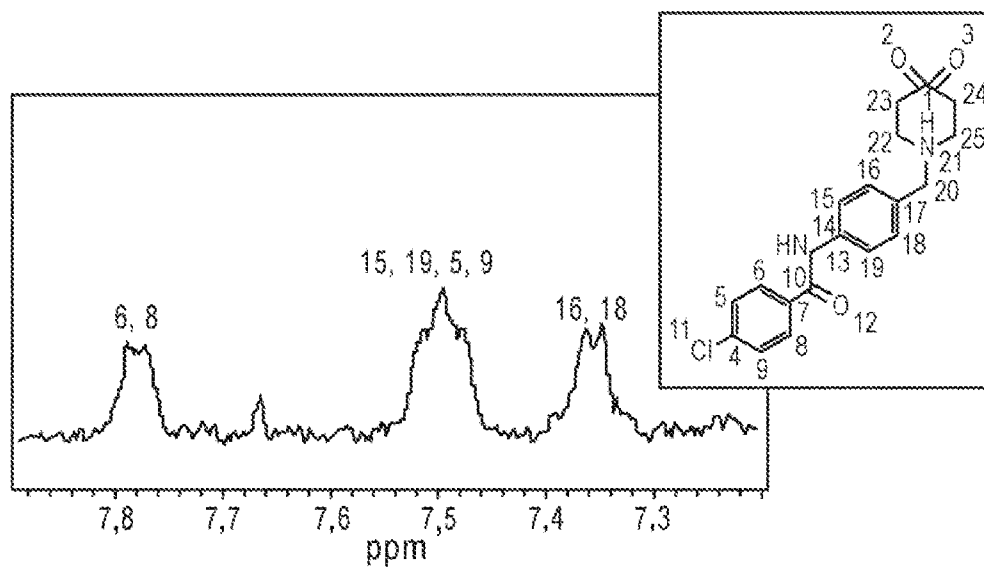


FIG. 3F

FIG. 3G

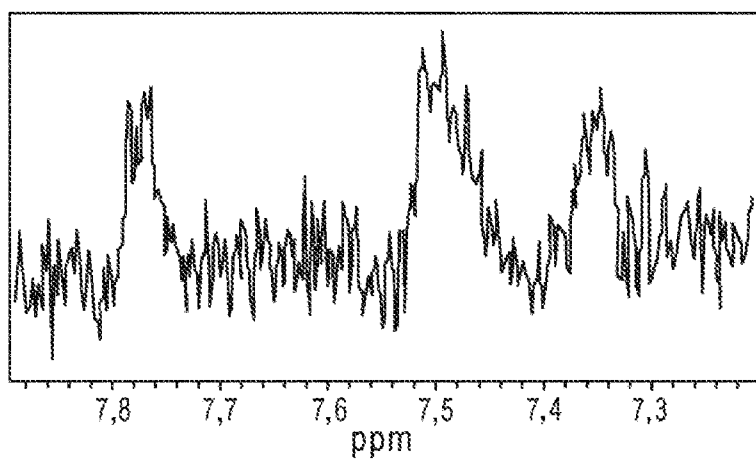


FIG. 3H

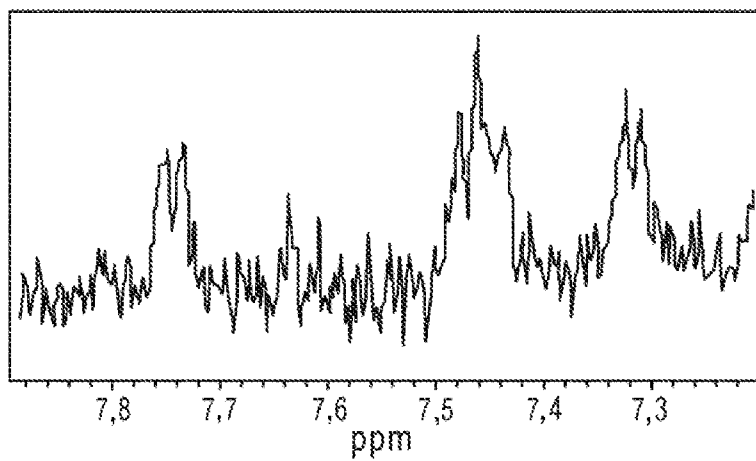


FIG. 3I

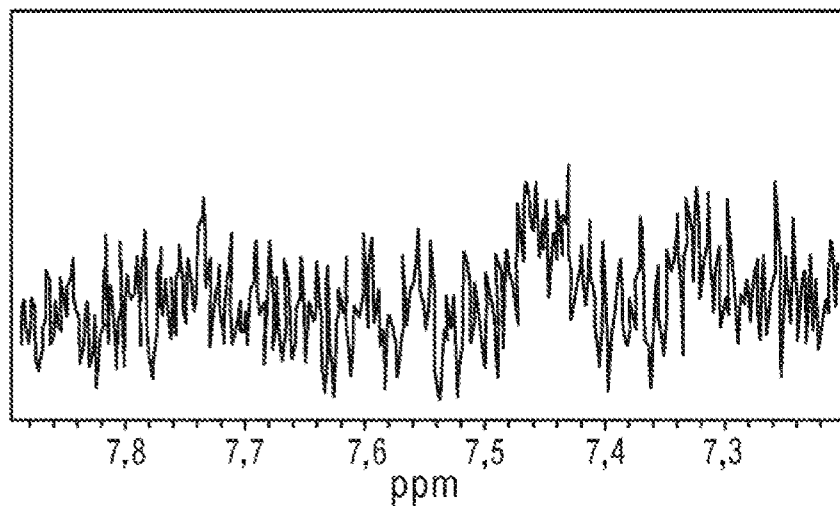


FIG. 3J

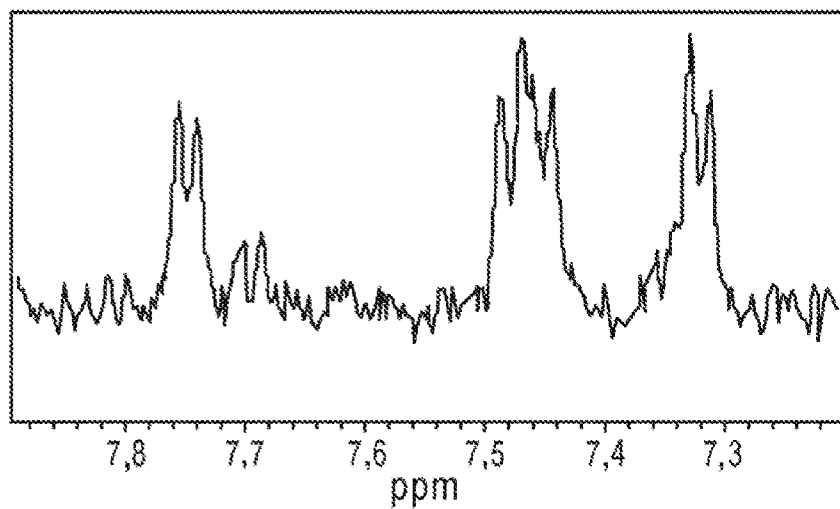
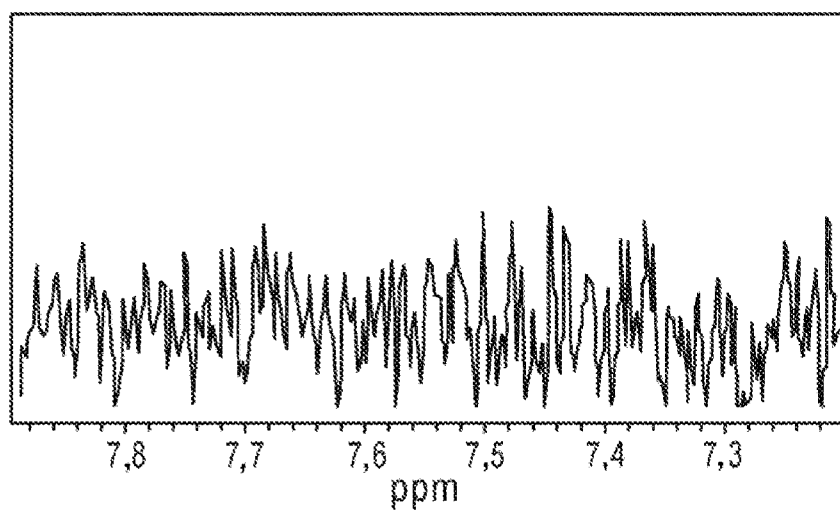


FIG. 3K



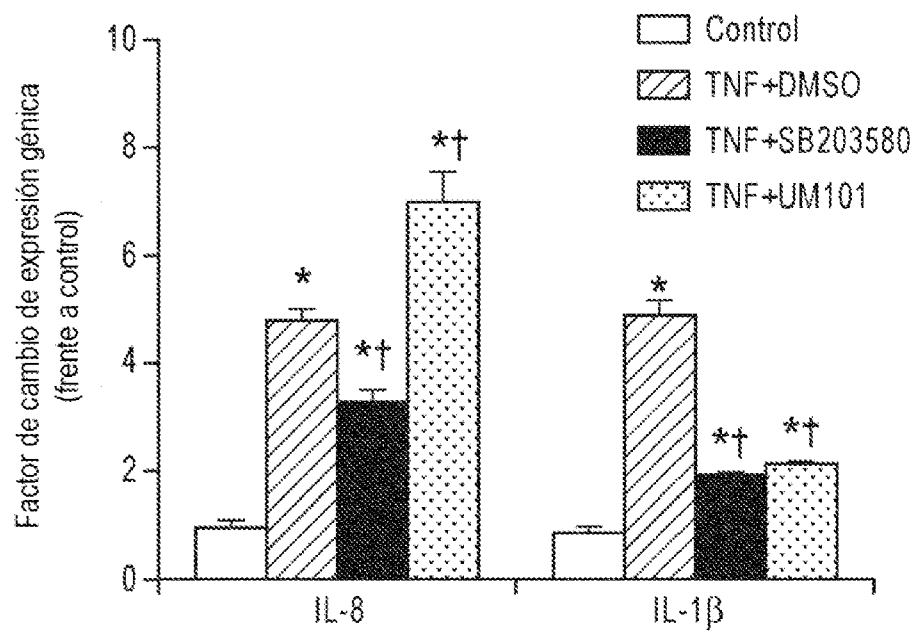
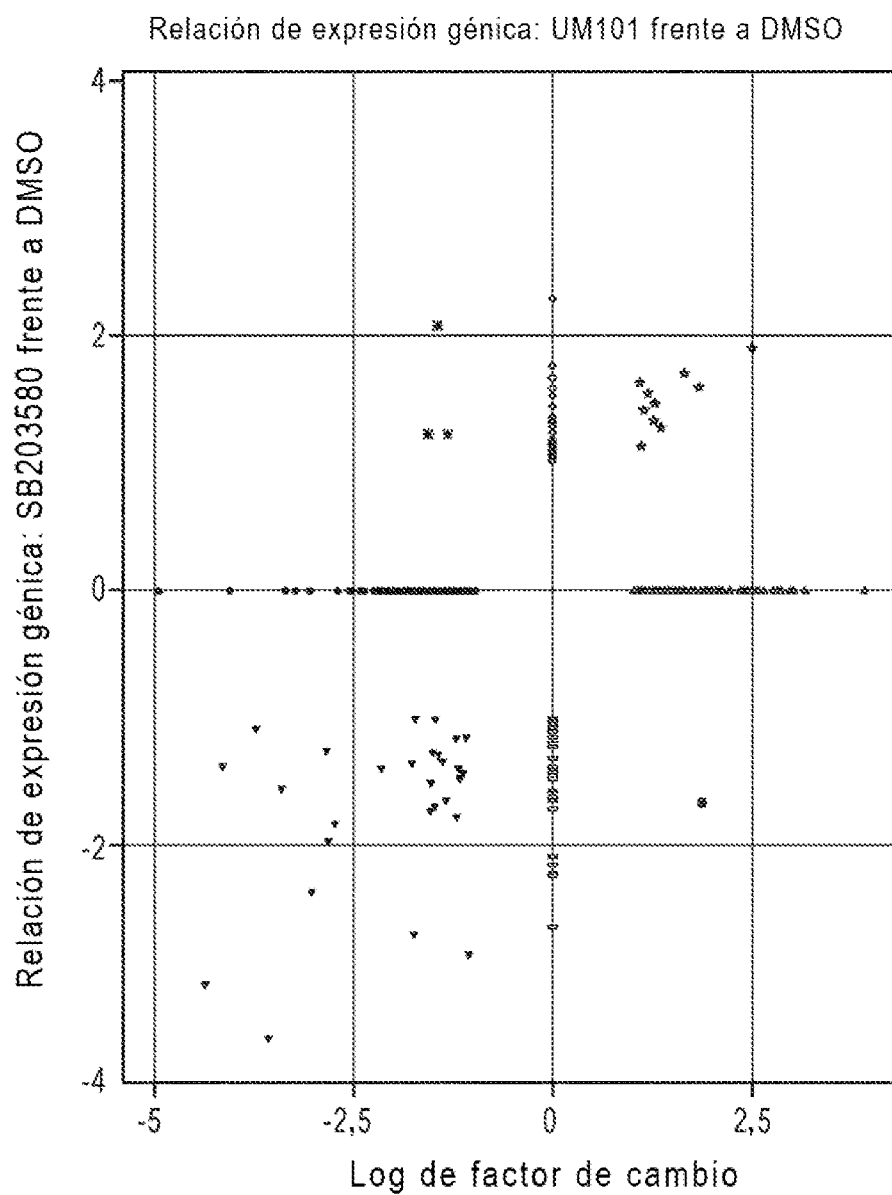


FIG. 4



Log(Factor.de.cambio)

*	ARRIBA/ARRIBA: 10
*	ABAJO/ARRIBA: 3
.	ABAJO/ABAJO: 28
.	ARRIBA/ABAJO: 1
△	ARRIBA/NINGUNO: 118
◇	NINGUNO/ARRIBA: 25
.	ABAJO/NINGUNO: 112
=	NINGUNO/ABAJO: 32

FIG. 5

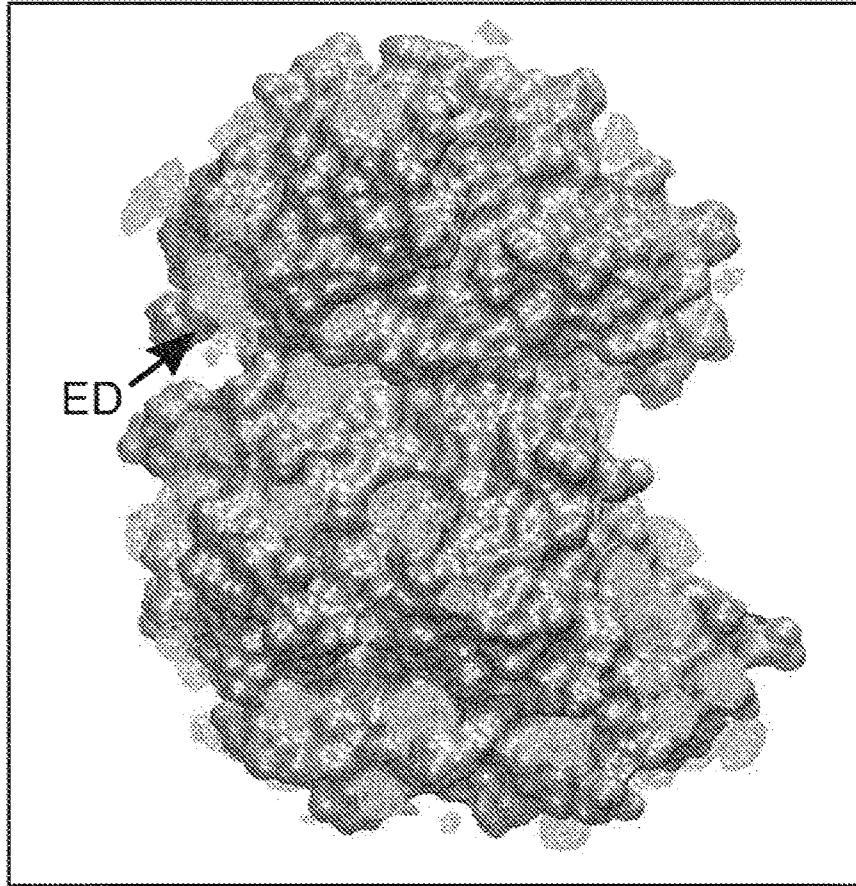


FIG. 6

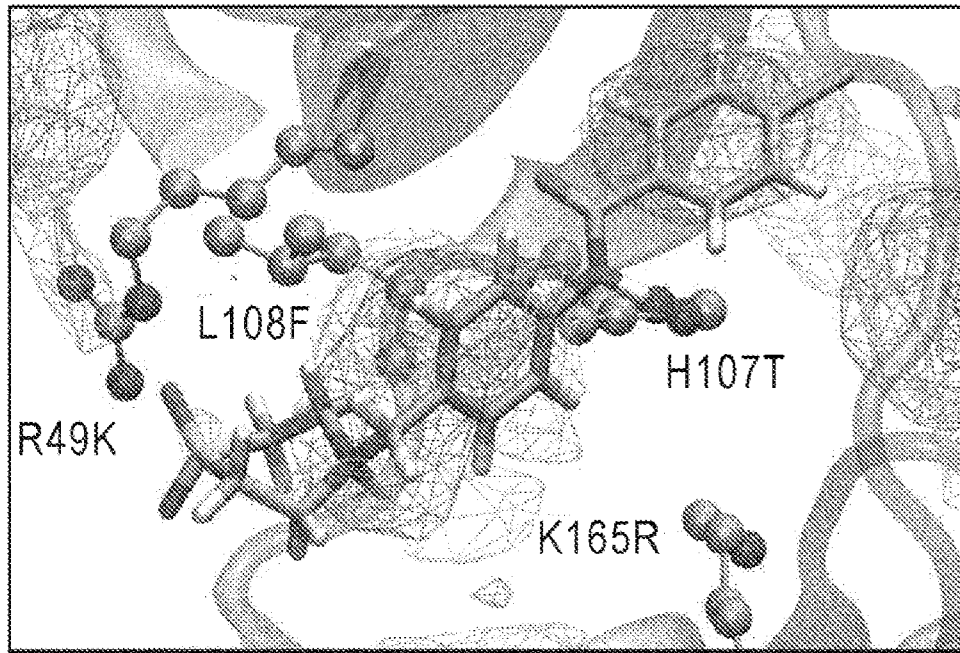


FIG. 7

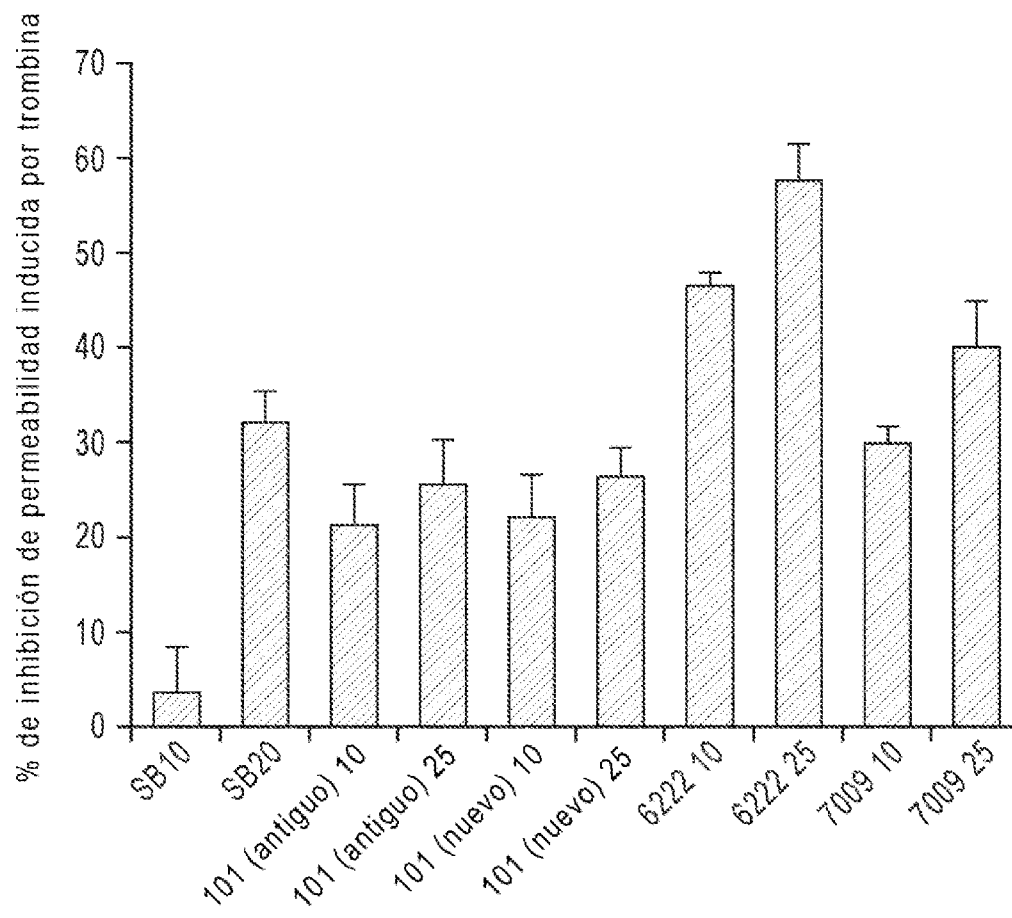


FIG. 8

Todos los ratones recibieron 100 µg de LPS i.t. y 24 h a 39 °C
 n = 4
 Experimentos realizados 10/18 y 10/22

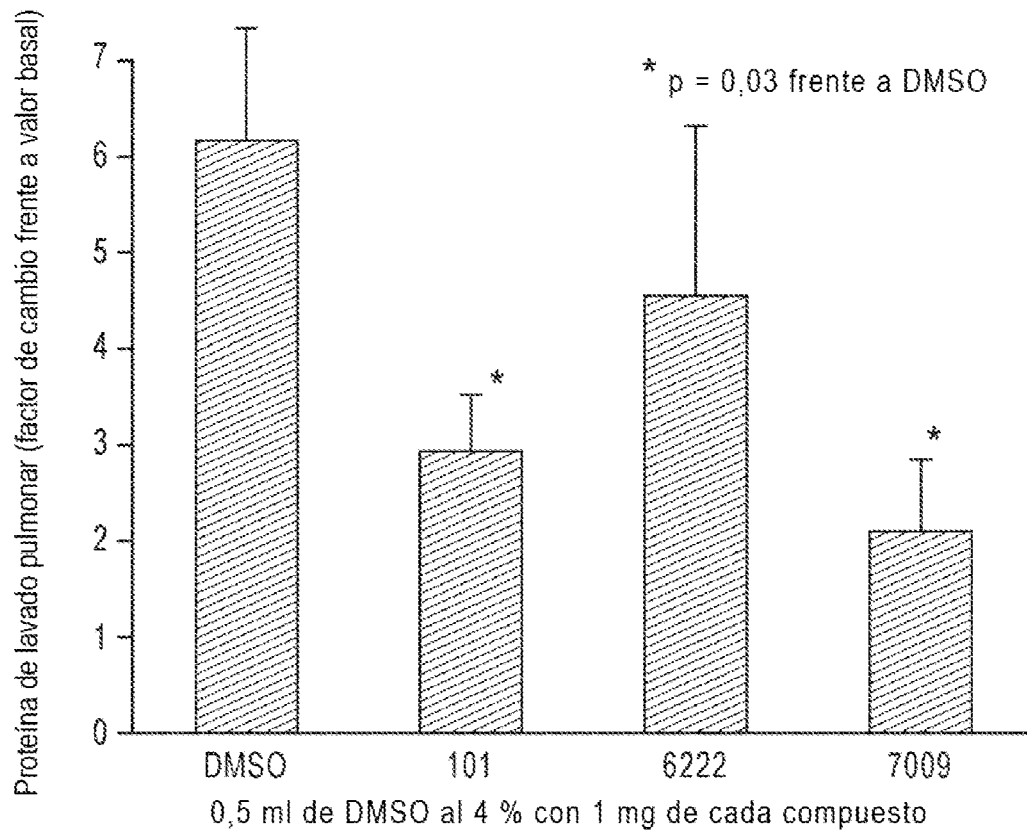


FIG. 9

Todos los ratones recibieron 50 µg de LPS i.t. y 24 h a 39 °C

Todos los tratamientos 1 mg en 0,5 ml de DMSO administrados 6 h después de LPS

Media ± EEM, n = 5

* p = 0,03 frente a DMSO n.º 1; † p = 0,16 frente a DMSO n.º 2

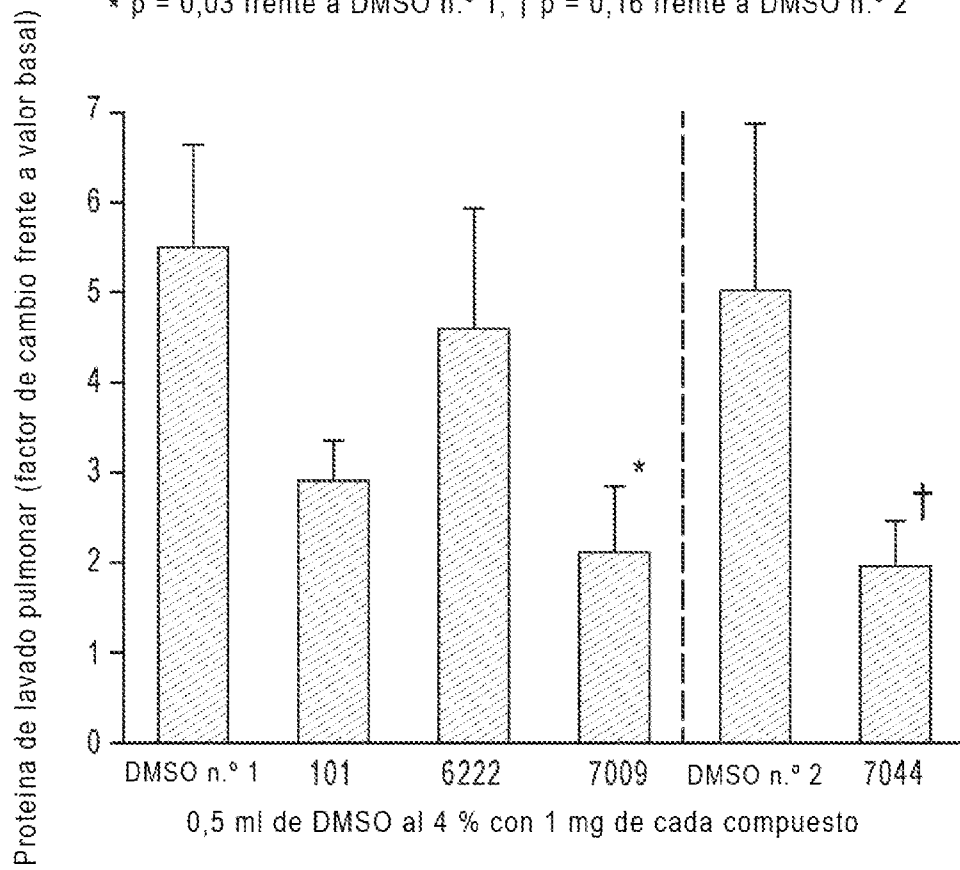


FIG. 10